

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SPONTANAKTIVITÄT
DER SEKUNDÄREN NEURONEN IM OLFAKTORISCHEN BULBUS
DES ZWERGWESES (*Ictalurus nebulosus*)

Disbui. München
1987

Stratis Georgakarakos





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554818_0085

Tag der mündlichen Prüfung 14.8.87

1. Berichterstatter Prof. Dr. P. Bruckmoser

2. Berichterstatter Prof. Dr. G. Neuweiler

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SPONTANAKTIVITÄT
DER SEKUNDÄREN NEURONEN IM OLFAKTORISCHEN BULBUS
DES ZWERGWELOSES (*Ictalurus nebulosus*)

Dissertation, zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Efstratios Georgakarakos
aus Athen

D a n k s a g u n g

Mein erster Dank gilt meinem Doktorvater Professor Dr. P. Bruckmoser, der mich in die neurophysiologische Welt eingeweiht hat, alle nötigen Mittel für die Realisierung meines Vorhabens dargeboten hat und schließlich durch seine freundliche Unterstützung mich kritisch bei der Arbeit ermutigt hat.

Herrn Prof. Dr. F. Zettler vom Zoologischen Institut und Herrn Prof. Dr. Zippel von der Universität Göttingen möchte ich für ihre wertvolle Unterstützung und für anregende Diskussionen danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. Gemperlein, der mir vielseitig bei der Datenanalyse sowie durch wertvolle Diskussionen geholfen hat.

Herrn Dr. G. Dierlich vom MPI für Psychiatrie München und Herrn Dr. W. Kafka vom MPI für Verhaltensforschung Seewiesen möchte ich für ihre mathematische und technische Unterstützung bei der Datenauswertung danken.

Meinen Kollegen im Zoologischen Institut und insbesondere Frau Kerin, Frau Tscharntke und Herrn Zaschka bin ich für ihre ständige Hilfsbereitschaft sehr verbunden.

Mein herzlicher Dank gilt ebenso meinen Freunden Dr. R. Wieser, Dr. G. Wieser, Dr. D. Weiss, Dr. R. Paul und Frau T. Lago-Schaaf, die mich vielseitig und nicht nur bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Meinen Freunden Frau Melli Schwed und Herrn Hellmut Schwed möchte ich sehr herzlich für die kritische Durchsicht des Manuskripts und ihre freundschaftliche Unterstützung danken.

Dem DAAD, der DFG, der ECRO und dem Bayerischen Staat bin ich für ihre finanzielle Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Inhaltsverzeichnis	1
Abkürzungen	3
E I N F Ü H R U N G	4
M E T H O D I K	
A. OPERATION	7
B. ABLEITUNG-REIZUNG	9
C. ERFASSUNG DER SIGNALE UND IDENTIFIZIERUNG DER NEURONEN	10
D. KÜHLUNG	12
E. AUSWERTUNG	
1. Die statistischen Parameter und der erste Stationaritätstest	14
2. Die Spikeintervallhistogramme (SIH)	15
3. Die Spikefolgehistogramme (SFH)	15
4. Die spektrale Analyse	15
5. Die Autokorrelationen	18
E R G E B N I S S E	
A. IDENTIFIZIERUNG DER SEKUNDÄREN NEURONEN	22
B. DIE SPONTANAKTIVITÄT DER SEKUNDÄREN NEURONEN	
a. Stationäre Zustände der Spontanaktivität ..	23
b. Spikeintervallhistogramme (SIH)	24
c. Spikefolgehistogramme (SFH)	26
d. Autokorrelationen (AK)	29
C. BEEINFLUSSUNG DER SPONTANAKTIVITÄT DER SEKUN- DÄREN NEURONEN DURCH DIE KÜHLUNG DES TRAKTUS	
a. Einfluß der Kühlung auf die Spikerate	31

b. Einfluß der Kühlung auf die Intervall-	
verteilung	33
c. Einfluß der Kühlung auf die Frequenz	
komponenten der Erwartungsdichte	34
D I S K U S S I O N	
A. DIE SPONTANAKTIVITÄT ALS MITTEL ZUR SYSTEMANALYSE	
a. Die Bedeutung der Analyse der Spontan	
aktivität	35
b. Der Bulbus als optimales Gebiet für die	
Untersuchung der Spontanaktivität	36
B. FUNKTIONELLE EINHEITEN INNERHALB DES	
BULBUS (MODULE)	37
C. DIE SPONTANAKTIVITÄT ALS DAS ENDERGEBNIS DER	
FUNKTION EINES VIELFALTIGEN RÜCKKOPPLUNGS	
SYSTEMS	
a. Offene Fragen zur Funktion des Bulbus	41
b. Methodisches Vorgehen	42
c. Interpretation der Ergebnisse	44
D. DIE BEDEUTUNG DER SPONTANAKTIVITÄT FÜR	
DIE FUNKTION DES BULBUS	50
E. VERGLEICH ZWISCHEN SÄUGERN UND FISCHEN	52
Z U S A M M E N F A S S U N G.....	54
A B B I L D U N G E N	59
L I T E R A T U R	77

A b k ü r z u n g e n

m	arithmetischer Mittelwert der Modi (s. S 25)
n	Anzahl der Meßdaten
r	Korrelationskoeffizient
s	Standardabweichung
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert der Stichprobe
K	Zeitbereich der kurzen Spikeintervalle
L	" " " " langen " "
M	" " " " mittleren " "
P	Signifikanzzahl
ED	Erwartungsdichte
SIH	Spikeintervallhistogramme
SFH	Spikefolgehistogramme
N(t)	Zeitfunktion, Anzahl der Inter- valle zum Zeitmoment t



E I N F Ü H R U N G

Das olfaktorische System besteht aus drei hintereinandergeschalteten Strukturen, nämlich der Mucosa, dem Bulbus und dem olfaktorischen Cortex (Abb.1). Die sekundären Neuronen des Bulbus stellen die einzige Verbindung zwischen Rezeptoren und Cortex dar. Sie sind zusammen mit zahlreichen Interneuronen im Bulbus zu einem komplexen Verarbeitungssystem zusammengeschaltet. Jede dieser drei Strukturen enthält eine enorm hohe Zahl von Neuronen (10^{5-8}). Jedes sekundäre Neuron im Bulbus wird sowohl bei den Säugern als auch bei den Knochenfischen auf ein breites Cortexareal projiziert.

Das große Interesse der neurophysiologischen Forschung am Bulbus liegt nicht nur darin, seine Aufgabe im olfaktorischen Prozeß aufzuklären, sondern vor allem in der Tatsache, daß er das einfachste kortikale, EEG-fähige System darstellt, dessen Analyse Informationen über andere derartige Systeme verspricht.

Aus seinen sekundären Neuronen werden in Abwesenheit eines Reizes Spikes abgeleitet, die sogar oft periodisch auftreten (Doeving and Hyvärinen 1969, Corrigall et al 1976). Diese Aktivität, die trotz Abwesenheit eines Reizes vorhanden ist, wird im folgenden als Spontanaktivität bezeichnet.

Nach jedem spontanen Spike folgen im olfaktorischen Bulbus sowohl bei Kaninchen (Yamamoto et al 1962) als auch bei Schildkröten (Jahr and Nicoll 1982) hemmende Mechanismen, die eine weitere Spikeentstehung verzögern. Da diese hemmenden Wirkungen verschiedene Latenzen aufweisen, wurde versucht, sie mit verschiedenen Rückkopplungen im Bulbus und olfaktorischen Traktus in Zusammenhang zu bringen. So haben Rall und Shepherd (1968) die dendrodendritischen Rückkopplungen zwischen den sekundären Neuronen und den Interneuronen im Bulbus als Ursache vorgeschlagen, während später auf andere Rückkopplungen (Fujita et al 1982, 1983), insbesondere auf die im Traktus (Westecker and Manns 1983) hingewiesen wurde.

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe konventioneller Methoden die statistischen Eigenschaften der spontanen Spikefolgen untersucht (Doeving and Hyvärinen 1969, Corrigall et al 1976). Durch diese Analyse ließ sich die enorm hohe Menge der Daten reduzieren und das zeitliche Verhalten der Spikeaktivität mit Hilfe ihrer statistischen Parameter untersuchen (z.B. Periodizität).

Aus dieser Untersuchung wurden ähnliche Ergebnisse wie bei den oben erwähnten Autoren erhalten:

- a) Die sekundären Neuronen des Bulbus haben die Tendenz im spontanen Zustand Spikes periodisch zu generieren. Diese Periodizität wird mit Hilfe der Erwartungsdichte bewiesen, die überwiegend im Frequenzbereich zwischen 7 und 11 Hz oszilliert.

b) Trotzdem zeigen die sukzessiven Spikeintervalle eine Abweichung aus der oben genannten Periodizität, und zwar variieren die Intervalle zwischen 2msec und 32 sec.

Um zu testen, ob diese Tendenz - sowohl die der Periodizität als auch die der großen Abweichung - von den neuronalen Fasern des Traktus abhängig ist, habe ich den Traktus unter Kontrolle begrenzt gekühlt.

Da frühere Versuche (ausführliche Literatur bei: Hara u. Gorbman 1967; Doeving u. Hyvärinen 1969), die über den Traktus laufenden Rückkopplungsschleifen zu öffnen, keine eindeutig interpretierbaren Ergebnisse lieferten, wurde in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der Unterkühlung versucht, die Geschwindigkeit der Spikeausbreitung im Traktus zu beeinflussen. Die Ergebnisse dieser Versuche bestätigen die Hypothese, daß sowohl die Periodizität in der Spikefolge als auch die Verteilung der Intervalle der sekundären Neuronen durch die Zeitverzögerung in den Rückkopplungsschleifen beeinflußt werden.

M E T H O D I K

A. OPERATION

Als Versuchstiere wurden insgesamt 50 geschlechtsreife Zwergwelse (*Ictalurus nebulosus*) mit einer Körperlänge von 20-24 cm verwendet. Die Fische wurden aus Italien importiert und mindestens 6 Monate lang in den Laboraquarien bei ca. 13-15 °C akklimatisiert.

Für die Operation wurde der Fisch in einer 0.02 %igen MS 222-Lösung (Tricainmethansulfat von Sandoz) narkotisiert, bis er die Atembewegungen einstellte. Sofort danach wurden seine Kiemen während der gesamten Versuchsdauer über das Maul mit belüftetem Leitungswasser durchströmt (Temperatur ca. 13°C, Durchflußrate 3ml/sec), und bis auf das Operationsfeld wurde der Fisch mit feuchtem Filterpapier abgedeckt. Zur Stilllegung während der Ableitung wurden 10 bis 50 µg Succinil-Asta (Suxamethoniumchlorid) intramusculär verabreicht. Ein vollständiges Abklingen der Lähmung war nach 3 bis 5 Stunden zu beobachten.

Die Präparation erforderte wegen der Winzigkeit (Bulbusdurchmesser 1-2 mm, Traktusdurchmesser 0.2-0.3 mm) und komplizierter Lagerverhältnisse der untersuchten Strukturen spezielle Techniken.

Zu Beginn der Operation wurde ein 30-50 mm langer und 10 mm breiter Hautstreifen, von der Nasenöffnung bis an das Foramen in der Mitte des Hirnschädels abpräpariert. Mit

einem Kavitätenbohrer wurden die Knochen- und Knorpelgewebe abgefräst, ohne die auf der Dura liegenden Blutgefäße zu verletzen. Direkt im Schädelknochen verlaufende kleine Blutgefäße wurden bei Verletzung sofort koaguliert (Codman Bipolar Coagulator), bzw. die Blutungen mit Gelfoam (Gelfoam sponges, Upjohn Company, Michigan 49001, USA) gestillt.

Ohne den Nasensack zu verletzen, wurde mit einem feinen Kavitätenbohrer die in der Tiefe liegende Knochenplatte abgefräst und mit Hilfe einer Ohrpolypenzange der Bulbus freigelegt. Dabei wurden die dort medioventral am Knochensteg anhaftende Hirnhaut und die Blutgefäße mit dem flach geführten Skalpell vorsichtig nach unten abgelöst. Mit sehr fein zugeschliffenen Uhrmacherpinzetten wurde die direkt darunter liegende Hirnhaut eröffnet und sorgfältig bis zur Einmündung des Traktus entfernt (Abb.12).

Nach den oben erwähnten Eingriffen wurde die Nasenöffnung wieder mit feuchtem Filterpapier abgedeckt und ein Teil des Liquors cerebrospinalis durch Paraffinöl ersetzt, um ein Austrocknen zu verhindern.

Obwohl die Verwendung des Succinyls keine Wirkung auf zentrale Strukturen aufweisen soll (Fujimori et al. 1959), wurde bei Dosierungen über 300 µg eine Beeinträchtigung der Durchblutung des Bulbus beobachtet. Bei einer gut gelungenen Operation und einer richtig dosierten Immobilisierung hat der Bulbus eine leicht rote Farbe, ein Zeichen, daß die Blutversorgung des Gehirns nicht vom Succinyl beeinflusst wurde.

B. ABLEITUNG - REIZUNG

Extrazelluläre Ableitungen spontanaktiver Neuronen des Bulbus wurden mit isolierten Stahldrähten durchgeführt (trimelcoated stainless steel wire von Johnson Matthey Metals Ltd, London, 61 μ Außendurchmesser), die in 10 cm lange Stücke geschnitten und mit ihren Enden an zwei Goldstecker gelötet wurden. Nach der Prüfung der Lötstellen mittels Widerstandsmessung wurden die Drähte in der Mitte durchgeschnitten und an den Enden abisoliert. Die auf diese Weise präparierten Drähte wurden in eine gesättigte Kaliumnitritlösung gebracht und mit Hilfe einer Wechselspannung (0.5 - 4 Volt) geätzt. Nach dem Ätzzvorgang wurden sie mit handelsüblichem Herbol-Kunstharzlack 3-4 fach nachisoliert. Die so hergestellten Elektroden wiesen einen Spitzendurchmesser von ca. 1 bis 5 μ und eine Impedanz von 500 k Ω bis 2 M Ω auf. (Bei 1 kHz Sinus-Spannung, 1 nA Stromstärke und Eintauchtiefe von 1 cm in Ringerlösung).

Als indifferente Elektrode diente eine Silberplatte, auf der das Versuchstier lag.

Zur elektrischen Reizung des Traktus wurden als bipolare Reizelektroden zugespitzte, isolierte Stahldrähte (Spitzendurchmesser 5 μ) mit etwa 300 μ Spitzenabstand verwendet. Über einen Ortec 4710 Stimulator und eine Tektronix 2620 Isoliereinheit wurden Rechteckimpulse mit einer Stromstärke von 5 bis 30 μ A und einer Dauer von 0.2 bis 0.6 msec verabreicht. Der Reizintervall betrug normalerweise 5 bis 10 sec.

C. ERFASSUNG DER SIGNALE UND IDENTIFIZIERUNG DER NEURONEN

Die 1000fach verstärkten Signale wurden auf dem Schirm eines Zweistrahl-Oszillografen (Tektronix 565) dargestellt und mit Hilfe einer Laborkamera (Recordine, Tönnies) gefilmt bzw. fotografiert.

Zur Abspeicherung stand ein 4-Spur-Tonbandgerät (Akai GX280 D-SS, 30 Hz - 25 kHz, bei -3dB) zur Verfügung.

Die ON LINE, bzw. die auf Tonbändern gespeicherten Daten wurden mittels eines Bandpaßfilters (Butterworth 0.3-3 kHz) gefiltert. Ein Amplitude Analyser (de Haer & Co) mit beliebig einstellbarem Amplitudenfenster gestattete eine Kontrolle der Höhe der Spikes, während ein Breitendetektor die Breite der Spikes prüfen konnte. Spikes innerhalb der eingestellten oberen und unteren Grenzen wurden in TTL-Impulse umgewandelt und von einem Mikrocomputer (KIM, 6502) erfaßt. Der Mikrocomputer lieferte in bestimmten Abständen halblogarithmische Aufzeichnungen der Spikeintervallhistogramme (SIH) und war an einen Tischrechner (CBM 3032, 6502) angeschlossen (Abb.2).

Die Spikeparameter (Höhe, Dauer, Form) und das Intervallhistogramm wurden in verschiedenen Zeitabständen erfaßt und verglichen. Spikes mit konstanter Form und Amplitudenvariabilität kleiner als 5% (Mountcastle et al. 1957) wurden als Ableitungen von einzelnen Neuronen akzeptiert.

Die Form extrazellulär abgeleiteter Spikes von Neuronen-Somata zeigen alle möglichen Variationen von monophasischen bis zu triphasischen Potentialen mit positiver oder negativer Anfangsphase (Amassian 1961, Towe 1973). Polarität und Dauer sind stark von den Ableitungsparametern abhängig (Rall 1962, Bishop et al. 1962a, Getchell 1973, Schwartz et al. 1976). Ableitungen von einem weit entfernten Neuron sind Spikes, die gewöhnlich nur einen negativen Gipfel aufweisen; wenn sich dagegen die Elektrode dem Neuron nähert, wird der Spike sowohl größer als auch biphasisch und initial positiv (Towe 1973, s.84).

Solche biphasischen Spikes wurden immer in anatomischen Schichten registriert, die Neuronen-Somata enthalten (ausführliche Lit. bei Amassian 1961 s.79). Eine theoretische Interpretation der verschiedenen Spikeformen, wie sie von den sekundären Neuronen des Bulbus abgeleitet werden, ist im Rall-Shepherd Modell ausführlich behandelt worden (Shepherd 1979). Im Gegensatz zu den Säugern sind bei den niederen Wirbeltieren die Neuronen des Bulbus nicht in Schichten angeordnet (Orrego 1961, Engler 1980), so daß es unmöglich ist aus der Einstichtiefe auf den Neuronentyp zu schließen. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die sekundären Neuronen durch antidrome Reizung nach folgenden Kriterien identifiziert (Bishop et al. 1962b, Potapov et al. 1976):

- I. Abwesenheit von Präpotentialen
- II. Niedrige Streuung der Latenz (<10%)
- III. Reproduzierbarkeit bei hohen Reizfrequenzen (über 20-40 Hz)
- IV. Eventuelle Kollision zwischen einem spontan und einem antidrom erregten Spike.

D. KÜHLUNG

Für die Unterkühlung des Traktus wurde ein Gerät entwickelt, das aus folgenden drei Teilen besteht:

I. Aus einer Reihe Peltier-Elemente (Fa. Siemens), die mit Leitungswasser ständig gekühlt wurden.

II. Aus einer silbernen Platte, die durch die Peltier-Elemente gekühlt wurde und in der Nähe des Traktus in einer Spitze auslief (1mm stark, 6mm breit).

Als Isolierungsmaterial wurde Styropor verwendet, das auf der Platte mit Silikonkleber befestigt wurde.

III. Aus zwei Elektroden, die an ein Digitalthermometer mit Schreiberausgang (Fa. Gulton) angeschlossen waren.

Über die Elektroden wurden ständig die Temperatur der silbernen Platte und die Temperatur verschiedener Teile des Traktus gemessen.

Durch eine regelbare Stromversorgung wurde die Kühlwirkung der Peltier-Elemente gesteuert, wodurch Temperaturen von $+10^{\circ}\text{C}$ bis -10°C erreicht werden konnten. Die Unterkühlung des Traktus von 10°C auf 0°C konnte innerhalb beliebiger Zeiten stattfinden (mindestens jedoch 3 sec). Die Möglichkeit zu schnellen Temperaturänderungen erwies sich als sehr wichtig für die Erfassung der Reaktionsgeschwindigkeit des untersuchten Systems.

Da aus technischen Gründen während der Experimente nur die Temperatur der silbernen Platte registriert werden konnte, wurden Testversuche vorgenommen, bei denen die Temperatur des Traktus direkt am Unterkühlungsort gemessen und mit der

Temperatur der silbernen Platte verglichen wurde.

Bei einer Unterkühlung auf 0°C, bzw. 7-8°C betrug der Unterschied der beiden gemessenen Temperaturen ca. 2°C, bzw. 1°C. Als Traktustemperatur wurde die mittlere Temperatur angegeben. Aus beiden Temperaturmeßdaten wurde folgende Regressionsgerade

$$T = 0.92 \cdot T_m + 0.92$$

berechnet, durch die aus der Messung der Temperatur der silbernen Platte T_m auf die Traktustemperatur T geschlossen werden kann.

Während einer 5 Minuten dauernden Unterkühlung des Traktus von 13°C auf 6°C wurde in einem Abstand von 15 mm vom Kuhlungsart keine meßbare Temperaturänderung festgestellt. Umgekehrt wurde bei einer Unterkühlung des Traktus auf -2°C in einem Abstand von 20 mm eine Unterkühlung des Bulbus von 13°C auf 12°C beobachtet.

E. AUSWERTUNG

Mit Hilfe eines KIM-Commodore Rechners wurden die Intervalle der abgeleiteten Spikefolgen gemessen. Das System konnte einen sehr breiten Bereich von Intervallen erfassen (min=0.1 msec, max=30 min, Auflösung 0.1 msec).

Spikeintervallhistogramme (SIH) wurden on-line berechnet und halblogarithmisch aufgezeichnet. Diese Darstellungen dienten der Orientierung des Experimentators über die Art der Spontanaktivität und das Auftreten von Nicht-Station-

naritäten in der Spikefolge. Die Meßdaten wurden auf einen Commodore 4040 übertragen und gespeichert.

Ein in Basic geschriebenes Software-Paket, das mit Hilfe eines Menü-Programms verwaltet wird, ermöglicht die statistische Analyse und die grafischen Darstellungen (Abb.3).

1. Die statistischen Parameter und der erste Stationaritätstest

Die nach der Erfassung (vgl. Methodik C.) gespeicherten Intervalle werden zuerst auf Stationarität geprüft. Diese Prüfung gilt als Voraussetzung für die Anwendung aller folgenden statistischen Methoden und sichert, daß die zu analysierenden Daten ihre statistische Parameter konstant halten.

So wird durch das Programm "COUNT" versucht, die Intervallfolge in 10 bis 30 gleich lange Zeitfenster (30-60 sec) zu unterteilen, wobei für jedes Zeitfenster das Stichprobenmittel, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient der Spikeintervalle berechnet werden. Das Unterprogramm "sta" prüft mit Hilfe des RUN-Tests und der Standardabweichung die Spikefolge auf Stationarität (Bendat and Piersol 1971 S.236). Allerdings findet die vollständige Stationaritätsprüfung erst später bei der Berechnung der Autokorrelationsfunktion statt.

Das Unterprogramm "add" realisiert einen Zählvorgang $N(t)$, bei dem die Zahl der Spikes vom Anfang der Messung bis zur Zeit t berechnet wird. Schließlich werden durch das

Programm "TREND" die mittlere Spikerate und die momentanen Abweichungen von der mittleren Spikerate berechnet.

2. Die Spikeintervallhistogramme (SIH)

Vier verschiedene Histogramme können durch die Verwendung entsprechender Unterprogramme berechnet werden: Das Histogramm in linearer (lin) oder halblogarithmischer (log) Darstellung, das Histogramm der Momentanfrequenz (fre) und die Verteilungsfunktion (cum).

Die SIH eines bestimmten stationären Abschnitts werden gemittelt und zusammen mit dem Standardfehler des arithmetischen Mittels gezeichnet.

3. Die Spikefolgehistogramme (SFH)

Diese Art der Darstellung wurde von Rodieck, Kiang und Gerstein (1962) eingeführt. Mit der gleichen Methode wird der serielle Korrelationskoeffizient berechnet und das SFH logarithmisch dargestellt. Teilweise wurden auch die Intervalle zweiter bis fünfter Ordnung berechnet (scaled interval) und ihre SIH bzw. SFH dargestellt (ORDER). Punktfreie Zonen bei diesen Histogrammen zeigen die Anwesenheit von starken inhibitorischen Rückkopplungen (Pernier and Gerin 1975, Holden and Ramadan 1980).

4. Die spektrale Analyse

Die Spektralanalyse der Spikefolge kann unter zwei grundsätzlich unterschiedlichen Aspekten berechnet werden.

Der erste interpretiert die Spikefolge als ein gewöhnliches

kontinuierliches Signal und führt, wie üblich, unter Berücksichtigung des Abtasttheorems die Fouriertransformation durch. Diese Art von Frequenzspektrum kann routinemäßig berechnet werden, seine Deutung ist aber wegen der Beeinflussung der Frequenzkomponenten durch die Spikeform schwierig.

Alternativ kann man die Spikefolge als einen Punktprozeß auffassen und spezielle Verfahren verwenden, um das Spektrum zu berechnen. Die vier wichtigsten wurden hier auf ihre Brauchbarkeit geprüft.

I. Die Momentanfrequenz

Dieses Verfahren generiert ein kontinuierliches Signal, das während jedes Intervalls $I(k)$ die Amplitude $1/I(k)$ aufweist. Wegen der extremen Schwankungen der Amplitude kommt es zu Verzerrungen im berechneten Spektrum. Besonders die Berechnung der Transferfunktion mittels dieses Spektrums ist nicht ratsam (Terzuolo und Bayly 1968).

In der vorliegenden Arbeit wurden die transformierten Daten daher logarithmisch weiter transformiert, (Programm "TRANS") und die so gewonnenen Daten nur bei der Berechnung der Trans-Autokorrelation verwendet.

II. Der Zählvorgang

Bei diesem Verfahren wird zuerst eine Zeitfolge $S(r)$ definiert, wobei $S(r)$ den Zeitabstand bis zur r -ten Spikeentstehung darstellt. Eine solche Transformation ähnelt der Intervallfolge-Darstellung und wird auf

die gleiche Weise weiter verarbeitet. Eine Variation dieser Methode ist die Differenzierung der Verteilungsfunktion der Zeitfolge $S(r)$ (Watanabe 1969). Dieses Verfahren entspricht praktisch einem Zählvorgang, bei dem die Zahl der Spikes in einem bestimmten Zeitraum Δt gezählt wird. Die Methode läßt Verzerrungs- und Überlappungseffekte (Aliasing) entstehen, die sogar vom Δt abhängig sind (French und Holden 1971).

III. Die Summe der Dirac-Impulse

Die Spikes werden bei dieser Methode als eine Summe von Dirac-Impulsen dargestellt (Gerstein und Kiang 1960). Das Spektrum läßt sich mittels eines speziellen Verfahrens leicht berechnen, besitzt jedoch einen sehr großen Gleichanteil. Da es keine einfache Methode gibt, diesen Gleichanteil zu kompensieren, werden die übrigen Frequenzkomponenten fehlerhaft dargestellt.

IV. Die Intervallfolge

Die Frequenzanalyse der Intervallfolge wird mittels der Autokovarianz, bzw. der seriellen Korrelation realisiert (Cox und Lewis 1966). In diesem Fall wird das Spektrum Überlappungs- und verzerrungsfrei berechnet. Die Problematik einer solchen Analyse liegt besonders in der Art der Darstellung. Im Gegensatz zu einer kontinuierlichen Zeitfunktion liefert die Intervallfolge ein Spektrum, das keine herkömmliche Frequenzfunktion darstellt.

Wegen dieser Schwierigkeiten und Nachteile der oben erwähnten Methoden wurden in der vorliegenden Arbeit die Spikefolgen nur durch Autokorrelationsmethoden analysiert, um eventuelle Periodizitäten in der Spikefolge zu erkennen.

5. Die Autokorrelationen

Die Berechnung der Autokorrelationsfunktion eines Punktprozesses erfolgt mit den gleichen Methoden, wie sie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben wurden.

Zwei dieser Methoden sind geeignet, eventuelle Periodizitäten in der Spikefolge zu entdecken, nämlich die Trans-Autokorrelation und die Erwartungsdichte.

I. Die Trans-Autokorrelation

Wegen der Beziehung

$$\log(1/I(k)) = -\log(I(k))$$

wurde auf die Berechnung der reziproken Werte verzichtet und unmittelbar der negative Wert des Logarithmus der Intervalldauer für die Darstellung der Autokorrelationsfunktion (Trans-Autokorrelation genannt) verwendet.

II. Die Erwartungsdichte

Unter den Methoden zur Berechnung der Autokorrelation gewann die Darstellung der Spikes als eine Summe von Dirac-Impulsen, besonders nach den analytischen Arbeiten von Huggins (1957) und Zadeh (1957) mehr und mehr an Bedeutung.

Nach der Darstellung der Spikefolge durch Dirac-Impulse kann die Autokorrelation strukturähnlich wie bei kontinuierlichen Signalen berechnet werden. Sie wird dann durch eine Summe von SIH angenähert (Gerstein und Kiang 1960).

Betrachten wir eine Spikefolge $s(t)$, die durch die Zeit der Spikeereignisse $t_1, t_2, \dots, t_n$ repräsentiert wird, so kann man die Spikefolge als eine Summe von Dirac-Impulsen darstellen,

$$s(t) = \sum_{k=1}^n \delta(t-t_k),$$

wobei mit $\delta(t)$ die Dirac-Funktion bezeichnet wird. Gemäß dieser Darstellung ergibt sich für die Autokorrelation die Beziehung:

$$AC(\tau) = \sum_{k=1}^n \sum_{l=1}^n \delta(t_k - t_l - \tau)$$

Nach dem Zerlegen der doppelten Summen erhalten wir:

$$AC(\tau) = n \cdot \delta(t) + \sum_{k=2}^n \delta(t_k - t_{k-1} - \tau) + \sum_{k=3}^n \delta(t_k - t_{k-2} - \tau) + \dots$$

Diese Formel erweist sich als sehr nützlich für die Interpretation und für die Berechnung der Autokorrelation. Jede Summe in der Gleichung entspricht den SIH erster, zweiter, dritter usw. Ordnung. Je höher die Ordnung der Intervalle gewählt wird, desto flacher sehen die Histogramme obiger

Summen aus (Wyss 1970).

Die Autokorrelationsfunktion der Punktprozesse ist in der Literatur unter verschiedenen Namen zu finden: Erwartungsdichte (Poggio und Viernstein 1964), Intensitätsfunktion (Cox 1965); die gleiche Funktion bei Erneuerungsprozessen heißt Erneuerungsdichte (Cox 1966). Die nach der oben erwähnten Methode berechnete Autokorrelationsfunktion wird im folgenden Erwartungsdichte genannt. Sie stellt die Wahrscheinlichkeit dar, daß ein oder mehrere Spikes im Zeitintervall $(t, t+Dt)$ entstehen.

Ein Vergleich der Erwartungsdichte mit der seriellen Korrelation oder mit der Trans-Autokorrelation zeigt, daß diese Korrelationsverfahren sehr unterschiedlich sind.

Die Erwartungsdichte berücksichtigt als einziges Verfahren auch die Intervalle höherer Ordnung.

Die Trans-Autokorrelation ist eine herkömmliche Zeitfunktion, während das serielle Korrelogramm durch eine Integerfunktion relativ zur Position der Intervalle dargestellt wird.

Für eine vollständige Beschreibung des Systems ist es erforderlich, alle Korrelationsverfahren durchzuführen, da die Abwesenheit z.B. einer Periodizität nach dem einen Verfahren nicht ausschließt, daß das System nach dem anderen Verfahren eine Periodizität besitzt.

Diese Notwendigkeit kann an folgendem Beispiel erläutert werden: Spikefolgen von Schrittmacher-Neuronen, die eine deutlich oszillierende Erwartungsdichte besitzen, können jede Form serieller Korrelogramme (positiv, negativ, null

oder oszillierend) aufweisen (Perkel et al. 1967). Die Form dieser Korrelogramme wird von der seriellen Abhängigkeit der Intervalle voneinander bestimmt und zeigt die Anwesenheit lang dauernder Trends oder Schwankungen in der Intervallfolge (Moore et al. 1966).

Bei stationären Prozessen strebt die Erwartungsdichte für $t \rightarrow \infty$ gegen $1/\mu$, wobei μ den Mittelwert der Intervalle erster Ordnung darstellt. Die Geschwindigkeit dieser Annäherung hängt vom Grad der "Zufälligkeit" einer Spike-folge ab. Schrittmacher-Neuronen nähern sich dem Grenzwert $1/\mu$ sehr langsam, während Neuronen ohne periodische Charakteristika diesen Wert schnell erreichen (Perkel et al. 1967).

E R G E B N I S S E

A. IDENTIFIZIERUNG DER SEKUNDÄREN NEURONEN

Entsprechend den Kriterien, die in der Methodik beschrieben wurden, konnten 51 spontanaktive Neuronen im Bulbus identifiziert werden. Die Ableitzeiten variierten zwischen 20 min und 190 min, die meisten ($n=45$) zwischen 30 min und 120 min. Die Höhe der Spikes variierte von Neuron zu Neuron zwischen 30 μ V und 400 μ V. Bi-, bzw. triphasische Spikes mit negativer Anfangsphase wurden in 49 Fällen beobachtet. Zwei Ableitungen lieferten biphasische Spikes mit positiver Anfangsphase (Abb.5a).

34 von den 51 Neuronen konnten durch elektrische Reizung des Traktus aktiviert werden. Wegen der konstanten Latenzen und der nachweisbaren Kollision mit orthodromen Spikes wurden die evozierten Spikes als antidrom gekennzeichnet und die Neuronen als sekundäre Neuronen identifiziert. Die errechneten aus den gemessenen Latenzen (Abb.6) Leitungsgeschwindigkeiten für die sekundären Fasern schwanken bei 13°C zwischen 0.3 und 5.3 m/sec (Median = 1.4 m/sec; Standardfehler=1.5 m/sec; $n=34$).

17 weitere Neuronen, die nicht antidrom antworteten, wurden wegen des ähnlichen Verhaltens ihrer Spontanaktivität als "wahrscheinlich sekundäre Neuronen" klassifiziert.

Die Somata aller 51 Neuronen lagen in radialer Richtung unter der Oberfläche des Bulbus zwischen 100 μ und 400 μ

(Median=210 μ , Standardfehler=10 μ , n=46) (Abb.7).

Bei Ableitungen an zwei Neuronen, die als sekundäre Neuronen identifiziert wurden (s. Methodik C.), wurde mit einer zweiten, feineren Elektrode (Durchmesser 1-2 μ) gleichzeitig mit den Spikes noch sehr kleine, negative, spikeartige Potentiale beobachtet. Diese spontanaktiven kleinen Potentiale, die oft Bursts bildeten, wurden entsprechend den angegebenen Kriterien für die Auswertung verworfen, weil sie eine variable Höhe aufwiesen (Abb.8).

Während der gesamten Dauer von 1860 sec einer solchen Ableitung wurde eine Wechselwirkung zwischen den kleinen negativen Potentialen und der Spikeform der sekundären Neuronen beobachtet: Wenn die kleinen Potentiale mit der positiven Phase der Spikes des sekundären Neurons zusammenfielen, wurde die positive Phase deutlich verlängert (Abb.9). Bei elektrischer Reizung des Traktus konnten solche negativen Potentiale nicht antidrom ausgelöst werden. Sie weisen insgesamt alle Merkmale der Aktivität von Interneuronen auf (Shepherd 1979).

B. DIE SPONTANAKTIVITÄT DER SEKUNDÄREN NEURONEN

a. Stationäre Zustände der Spontanaktivität

Mit Hilfe des run Tests wurden die Spikefolgen der 51 Neuronen in stationäre und nicht stationäre Zeitbereiche unterteilt (s. Methodik E.). Bei dieser Methode werden die Spikefolgen als stationär anerkannt, wenn sich die Varianz

der Spikeintervalle nicht signifikant ändert. Die nicht stationären Teile entstanden in den Spikefolgen fast ausschließlich ($n=49$) wegen langer Pausen in der Spontanaktivität und selten ($n=2$) wegen plötzlicher Erhöhung der Spikerate. Die stationären Teile machten 77-92% der gesamten Ableitzeit aus; ihre Dauer variierte zwischen 30 und 1600 sec. Stationäre und nicht stationäre Abschnitte wurden als Zeitfunktion $N(t)$ dargestellt. Die mittlere Spikerate der stationären Phasen variierte von Neuron zu Neuron zwischen 0.2 und 5 Imp/sec (13°C). Für die stationären Teile wurden zusätzlich die Abweichungen aus der Trendlinie angegeben (Abb.10) und Spikeintervallhistogramme, Spikefolgehistogramme und Auto-korrelationsfunktionen berechnet.

b. Spikeintervallhistogramme (SIH)

Weil die Spikeintervalle in den einzelnen stationären Phasen eines Neurons einen großen relativen Variationskoeffizienten ($V_r=100*s/\bar{x}$) aufweisen, wurde für die SIH eine logarithmische Zeitachse gewählt. Diese Darstellung lieferte bi- und trimodale Verteilungen (Abb.11).

Aus der Untersuchung der SIH aller 51 sekundären Neuronen geht folgendes hervor.

- I. Die aus dem gleichen stationären Teil in der Spikefolge stammenden SIH sind statistisch homogen. (Kein Unterschied nachweisbar nach dem Test von Kolmogoroff und Smirnow; $P=0.95$, zweiseitige Fragestellung). Diese Homogenität konnte für die

gesamte Zeit des stationären Teils (1-25 min) nachgewiesen werden.

II. Die Spikeintervalle sind annähernd lognormal um die einzelnen Modi verteilt.

III. Der Modus bzw. die Modi jedes SIH streuen von einem Neuron zum anderen. Trotz dieser Streuung liegen die Modi immer in drei gut voneinander abgegrenzten Zeitbereichen. Für jeden dieser drei Zeitbereiche wurde das arithmetische Mittel (m) der Modi aller stationären Bereiche eines bestimmten Neurons und der 95%-Vertrauensbereich des Mittelwerts berechnet (Tabelle 1). Wie aus den sich nicht überdeckenden Vertrauensbereichen hervorgeht, sind die Unterschiede der Mittelwerte statistisch gesichert ($P=0.99$).

T A B E L L E 1			
Die Komponenten des Intervallhistogramms stationärer Abschnitte von 51 Neuronen			
Zeitbereich	n	M O D I	
		arithm. Mittel m	95%-Vertrauens- bereich
K kurze Intervalle	29	6.2 msec	$3.4 < m < 9$ msec
M mittlere Intervalle	33	249 msec	$168 < m < 330$ msec
L lange Intervalle	15	3.9 sec	$2.9 < m < 4.9$ sec

IV. Jedes SIH kann Modi enthalten, die sich in den Zeitbereichen der kurzen (K), der mittleren (M) oder der langen (L) Intervalle befinden. Dementsprechend werden die verschiedenen SIH durch eine Kombination der oben genannten Modi (K, M, L) charakterisiert. (Tab 2.)

T A B E L L E 2		
Die Häufigkeit der Aktivitätstypen stationärer Abschnitte von 51 Neuronen		
Vorhandene Modi	n	%
I. K M	26	51
II. M L	8	16
III. K M L	17	33
Summe	51	100

V. Eine gelegentlich vorkommende gleichzeitige Ableitung von zwei benachbarten Neuronen liefert SIH, die gleiche oder verschiedene Formen aufweisen können.

VI. Stationäre und nicht stationäre Teile der Spikefolge ein und desselben Neurons haben unterschiedliche SIH. Die Modi verschwinden in den nicht stationären Abschnitten und werden durch eine Lognormalverteilung im mittleren Zeitbereich (M) ersetzt.

c. Spikefolgehistogramme (SFH)

Mit Hilfe der seriellen Korrelation aufeinanderfolgender Intervalle (Spikefolgehistogramm erster Ordnung) konnten

die untersuchten 51 sekundären Neuronen in drei verschiedene Gruppen unterteilt werden:

Gruppe I: Diese zeigt eine sehr schwache Korrelation zwischen dem ersten und zweiten Intervall (Korrelationskoeffizient $r \leq 0.2$; $P=0.95$). Die Intervalle streuen zwischen 20 und 5000 msec. Alle Neuronen mit SIH des Typs KM (51% der untersuchten Neuronen) fallen in diese Kategorie (Abb.12A).

Gruppe II: Bei diesen Neuronen sind alle aufeinanderfolgenden Intervalle negativ korreliert. Die Tatsache, daß die Intervalle der Neuronen dieser Gruppe lineare Korrelationskoeffizienten niedriger als 0.3 ergeben, zeigt, daß praktisch kein linearer Zusammenhang zwischen den Intervallen besteht. Es besteht jedoch ein guter nichtlinearer Zusammenhang, den die Funktion

$$I(i+1)=I(i)/(a+b \cdot I(i))$$

am besten beschreibt, wobei $I(i)$ und $I(i+1)$ die aufeinanderfolgenden Intervalle sind und für die Regressionskoeffizienten $a < 0$ und $b > 0$ gilt.

Der Korrelationskoeffizient variiert von Neuron zu Neuron zwischen -0.65 und -0.81 ($P=0.95$). Alle Neuronen mit SIH des Typs ML (16% der untersuchten Neuronen) lassen sich in diese Kategorie einordnen (Abb.12B).

Gruppe III: Die Punktwolke des SFH besteht aus drei gut voneinander unterscheidbaren Punktmengen, die verschiedene Intervallkombinationen enthalten.

Für die beiden Punktmengen, die an der Abszisse bzw. der Ordinate liegen, gilt folgendes: Auf ein kurzes (≤ 8 msec) folgt ein langes (≥ 100 msec) Intervall und auf ein langes ein kurzes. Der lineare Korrelationskoeffizient für jede der seitlichen Teilmassen variiert von Neuron zu Neuron zwischen -0.2 und -0.5 . Bei einer gemeinsamen Betrachtung von beiden seitlichen Teilmassen und bei Verwendung der gleichen - wie bei der Gruppe II - linearisierenden Funktion weisen die aufeinanderfolgenden Spikeintervalle einen hohen negativen Korrelationskoeffizienten r zwischen -0.72 und -0.96 auf.

33% aller abgeleiteten sekundären Neuronen - die gleichen, die SIH des Typs KML liefern - gehören zu dieser Kategorie (Abb.12C), Vgl. Tabelle 3.

T A B E L L E 3				
Die Spikefolgehistogramme				
Aktivitätstyp	Korr.Koeff. ($P=0.95$)	Punktfreie Zone min max	Anpass. Parameter	%
I	$0.2 > r$			51
II	$-.65 > r > -.81$	300ms 10 s	$-.002 > a > -.7$	16
III	$-.72 > r > -.96$	8ms 100ms	$.05 < b < .4$	33

Bei allen drei Gruppen wurde keine Burstaktivität gefunden. Auf ein Spikeintervall von 2-10 msec folgt also niemals ein weiterer Spike innerhalb von 10 msec, was im SFH als Lücke auffällt. Zusätzlich zu der fehlenden Intervallkombination 2-10 msec weisen die Gruppen II und III eine weitere Lücke

zwischen 8 und 100 msec, bzw. zwischen 100 msec und 10 sec auf.

Bursthaltige SFH wurden nur in den nicht stationären Teilen der Ableitungen entdeckt. In diesen SFH ist die Punktwolke einheitlich, d.h., konstante Lücken, die der Abgrenzung von Teilmengen dienen könnten, fehlen.

Alle drei Gruppen enthalten Neuronen deren Axonen Leitungsgeschwindigkeiten von 0.5 bis 5.5 m/sec aufweisen, die sich nicht statistisch signifikant voneinander unterscheiden (Kolmogoroff und Smirnow Test; $P=0.95$) (Abb.6).

d. Autokorrelationen (AK)

Mit zwei verschiedenen Autokorrelationsmethoden wurden die Spike-Intervalle der Spontanaktivität der Neuronen auf eine eventuelle Periodizität überprüft.

Mit der ersten Methode wird die Erwartungsdichte der Spikefolge berechnet. Bei dieser Art der Autokorrelation finden die Intervalle aller Ordnungen Berücksichtigung. Das Ergebnis einer solchen Auswertung ist in Abb.13A dargestellt. In diesem Fall liegt das Maximum des Spektrums der Erwartungsdichte bei 8 Hz.

Abb.13B zeigt ein representatives Ergebnis im Falle einer Kontrolle. Um die Größe rein zufälliger Oszillationen der Erwartungsdichte zu kontrollieren, wurden die Spikeintervalle vor der Berechnung zufällig gemischt.

Bei 32 von 51 analysierten Neuronen konnten deutliche Oszillationen der Erwartungsdichte nachgewiesen werden. Für

die übrigen Neuronen ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Erwartungsdichte der Experimental- und Kontrolldaten.

Die FFT-Analyse der Erwartungsdichte der Spikeintervalle bei diesen 32 periodischen Neuronen ergibt vier verschiedene Frequenzkomponenten; zwei davon, nämlich II und III (Tab.4) treten bevorzugt auf und haben auch eine deutlich höhere Amplitude.

Die zweite Autokorrelationsmethode (Trans-Autokorrelation) gibt Aufschluß über eine Periodizität der Intervalle erster Ordnung. Der Zweck einer solchen vergleichenden Analyse ist, festzustellen, ob die vorhandene Periodizität auf die Intervalle erster oder höherer Ordnung zurückzuführen ist. Bei dieser zweiten Methode konnte bei keinem Neuron eine Periodizität der Spontanaktivität festgestellt werden (Abb.13c). Folglich beruht die mit Hilfe der ersten Methode ermittelte Periodizität auf den Intervallen höherer Ordnung. Dieses Ergebnis ist für die Erklärung der Intervallbildung in der Spikefolge von Bedeutung (s. Diskussion C,c.).

T A B E L L E 4				
Die Frequenzkomponenten der Erwartungsdichte				
	I	II	III	IV
Frequenzbereich (Hz)	3-4	7-8	10-11	16-18
Amplitude (Spikes/sec)	14	40	31	22
95%-VB der Amplitude	5	8	6	9
Anzahl der Neuronen	16	27	20	11

C. BEEINFLUSSUNG DER SPONTANAKTIVITÄT DER SEKUNDÄREN NEURONEN DURCH DIE KÜHLUNG DES TRAKTUS

Um die Auswirkung der Kühlung des Traktus auf die Spontanaktivität zu untersuchen, wurden die statistischen Parameter der Spikefolge nach der Kühlung und der Zeitverlauf der Temperaturänderung gemessen. Bei 17 von 51 untersuchten Neuronen konnte die Temperatur des Traktus von der normalen Wassertemperatur (13°C) bis auf die Temperatur, bei der die Spikeausbreitung blockiert wurde (1°C bis -2°C), abgesenkt werden.

a. Einfluß der Kühlung auf die Spikerate

1. Abkühlung oberhalb der Blockierungstemperatur.

Alle in diesem Kapitel erwähnten Trendänderungen wurden mit Hilfe des Cox und Stuart Trendtests auf dem 5% Niveau gesichert.

Bei allen 17 Neuronen rief die monoton sinkende Temperatur des Traktus einen nicht monotonen oder sogar einen oszillierenden Rückgang der Spikerate hervor.

Eine Abkühlung um $1-2^{\circ}\text{C}$ reichte aus, um eine statistisch signifikante Abnahme der Spikerate aller untersuchten Neuronen in den ersten 30-90 sec zu registrieren ($Q(10)=1.6$

bis 1.8; $m=1.7$).

Nach dieser ersten Abnahmephase, die 60-180 sec dauerte, stieg die Spikerate wieder an und erreichte nach 90-240 sec einen Wert von 70-80% der Spikerate vor der Unterkühlung. Die neue Spikerate zeigte ein stationäres Verhalten, wenn der Traktus nicht weiter unterkühlt wurde.

Eine weitere Kühlung des Traktus rief eine neue Abnahme- und Anstiegsphase hervor. Beide Phasen konnten bei weiterer Abkühlung so oft wiederholt werden, bis die Blockierungstemperatur erreicht wurde. Abb.14 zeigt am Beispiel eines Neurons eine dreistufige Unterkühlung des Traktus und die entsprechende Abnahme der Spikerate.

2. Abkühlung bis auf die Blockierungstemperatur

Von den 17 untersuchten Neuronen konnten 14 bis zur Blockierung gekühlt werden. Neun Neuronen zeigten eine plötzliche Erhöhung, vier Neuronen eine Senkung der Spikerate und ein Neuron keine eindeutige Änderung.

Die Änderung der Spikerate von zwei Neuronen wird als Beispiel dargestellt (Abb.15 und 16). Bei der Blockierungstemperatur ist in einem Fall eine Erhöhung, im anderen Fall eine Senkung der Spikerate zu beobachten.

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die Änderung der Spikeraten und die Blockierungstemperaturen für alle untersuchten Neuronen.

T A B E L L E 5			
Änderung der Rate der Spontanaktivität bei Blockierung der Spikeausbreitung im Traktus durch Kühlung			
Spikerate	n	relat. Änderung r_2/r_1	Temperatur bei Trend- änderung
ERHÖHUNG $r_1 < r_2$	9	180-420% ($m=230\%$)	1°C bis -2°C ($m=-.5^\circ\text{C}$)
SENKUNG $r_1 > r_2$	4	10-55% ($m=22\%$)	0°C bis -2°C ($m=-1^\circ\text{C}$)
keine eindeuti- ge Reaktion	1		
r1: Spikerate vor u. r2: Spikerate nach der Blockierung			

b. Einfluß der Kühlung auf die Intervallverteilung

Bei jeder leichten Kühlung des Traktus (oberhalb der Blockierungstemperatur) wurde bei den 17 untersuchten Neuronen eine Verschiebung der M- und L- Intervallbereiche des SIHs zu längeren Intervallen beobachtet, der K-Intervallbereich wurde dagegen kaum beeinflußt.

Eine zweistufige Kühlung des Traktus führte zu einer ebenfalls zweistufigen Verschiebung der SIH-Gipfel (Abb.17). Die Unterschiede sind auf dem 5%-Niveau statistisch gesichert (Kolmogoroff und Smirnow Test). Eine Kühlung des Traktus um 10°C lieferte Intervalle, die maximal um den Faktor 1.2 bis 1.8 länger waren.

Eine weitere Kühlung bis auf die Blockierungstemperatur

verursachte eine Unterdrückung der vorherigen Gipfel und die Entstehung neuer Intervalle, die hauptsächlich zwischen 10 und 200 msec lagen (Abb.18).

Völlig entsprechende Befunde ergaben sich auch bei den SFH erster Ordnung. Die Entstehung der neuen Spikeintervalle führt zu einem SFH mit einer einheitlichen Punktwolke (Abb.19).

c. Einfluß der Kühlung auf die Frequenzkomponenten der Erwartungsdichte

Bei 11 von 17 analysierten Neuronen konnte nach der Unterkühlung des Traktus eine Änderung des Spektrums der Erwartungsdichte nachgewiesen werden. Die Amplitude der dominierenden Hauptkomponenten II und III (Tabelle 4) wurde stark reduziert, während neue Komponenten in den Frequenzbereichen zwischen 4-8, bzw. 11-16 Hz entstanden (Abb.20). Für die sechs übrigen Neuronen ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Erwartungsdichte.

D I S K U S S I O N

A. DIE SPONTANAKTIVITÄT ALS MITTEL ZUR SYSTEMANALYSE

a. Die Bedeutung der Analyse der Spontanaktivität

Je nach Ableitort, experimenteller Behandlung und Art der statistischen Analyse wurden seit den Anfängen der Neurophysiologie die verschiedensten Interpretationen für die Entstehung und Bedeutung der Spontanaktivität im ZNS vertreten (ausführliche Literatur bei: Hyvärinen 1966 und Getchell u. Getchell 1974). Diese Interpretationen können in zwei Gruppen unterteilt werden. Die eine Gruppe stellt die These auf, daß die Spontanaktivität eine Art neuronales Rauschen darstellt, wohingegen bei der zweiten Gruppe die Spontanaktivität als eine Art Signalträger für die Informationsübertragung interpretiert wird.

Neben der Klärung des Mechanismus der Intervallbildung in der Spikefolge versucht die vorliegende Arbeit zu untersuchen, ob die Analyse der Spontanaktivität nicht nur Information über die Aktivität selbst, sondern auch über die Struktur des spontanaktiven Systems liefern könnte.

b. Der Bulbus als optimales Gebiet für die Untersuchung der Spontanaktivität

Sehr viele neuronale Strukturen im Gehirn der Vertebraten sind spontanaktiv und als Modelle geeignet. Ein solches Modell sollte möglichst repräsentativ für viele neuronale Strukturen sein, experimentell einfach zu manipulieren und mit relativ wenigen Ein- und Ausgängen versehen sein.

Der olfaktorische Bulbus stellt das einfachste kortikale System dar, eine *E. coli* der Neurophysiologie, wie Shepherd den Bulbus genannt hat (1970). Er ist selbst ein oszillierendes System, ist EEG fähig und weist eine symmetrische Architektur auf. Außerdem liegen viele für eine Analyse nötige biophysikalische (Rall 1977), kybernetische (Freeman 1983a) und neurochemische Arbeiten (Nowicky et al. 1983) bereits vor.

Die vergleichende Anatomie (Andres 1970) und Neurophysiologie (Bruckmoser 1973, Shepherd 1979) dieses Gebietes zeigt, daß der Bulbus eine der ersten kortikalen Strukturen in der Phylogenese ist und in der Vertebratenreihe fast unverändert blieb. Da das Riechen bei Fischen, im Gegensatz zu den anderen Wirbeltieren (Schwartz 1970), in keiner funktionellen Wechselwirkung zur Atmung steht, wurden die vorliegenden Experimente bei Fischen durchgeführt. Der für diesen Zweck gewählte Zwergwels *Ictalurus nebulosus* besitzt einen besonders langen Traktus, der sich für die experimentelle Behandlung von Rückkopplungsprozessen hervorragend eignet.

B. FUNKTIONELLE EINHEITEN INNERHALB DES BULBUS (Module)

Obwohl der Bulbus ein sehr kompliziertes Geflecht mit unzähligen neuronalen Verbindungen darstellt, wurde seit jeher auf verschiedene Weise versucht, ihn in elementare anatomische Bausteine zu unterteilen.

Eine Reihe neuerer neurophysiologischer Arbeiten versuchte mehr die funktionellen Aufgaben solcher Strukturen zu untersuchen und die Gesamtfunktion des Bulbus in eine Summe funktioneller Einheiten (Module) zu unterteilen. Als Beispiele dieser Tendenz können die "basic circuits" von Shepherd (1978), die "wave packets" von Freeman (1978) und außerdem noch die Aktivitätsmuster der Glomerulischicht nach der 2-Deoxyglycose-Methode (Sharp et al. 1975, 1977) erwähnt werden. Wie aus all diesen Arbeiten hervorgeht, muß ein Modul folgende Bedingungen erfüllen:

- I. Er stellt eine "typische" Einheit dar, die sich überall im Bulbus wiederholt.
- II. Er ist funktionell selbständig, ist also in der Lage ein Maximum an olfaktorischer Information zu empfangen, zu verarbeiten und weiter zu übertragen.
- III. Eine Ansammlung solcher Module kann den Bulbus funktionell völlig ersetzen.

Die Aufgabe der sekundären Neuronen ist die weitere Übertragung der olfaktorischen Information nach höheren Zentren, wohingegen die Interneuronen eine Rückwirkung auf die Funktion der sekundären Neuronen ausüben. Diese

Konstruktion wiederholt sich überall im Bulbus; obwohl ihre geometrischen Parameter sich ändern können, bleibt ihr Bauprinzip gleich. Eine Reihe von Untersuchungen sowohl bei Säugern als auch bei Knochenfischen zeigte, daß funktionswichtige Elemente, wie die dendrodendritischen oder die axoaxonalen Synapsen, sich überall im Bulbus befinden und zu den Bestandteilen jedes Moduls gehören (Shepherd 1972, 1979; Kosaka u. Hama 1983).

Wie aus den Ergebnissen sowohl der 2-Deoxyglykose-Untersuchungen (Lancet et al. 1982) als auch der EEG-Analyse (Freeman u. Schneider 1982) hervorgeht, enthält jeder Glomerulus eine wesentliche Information über die Qualität jedes beliebigen Duftreizes. Die Duftqualität drückt sich in einer ungleichen Verteilung der Bulbusaktivität aus. Eine derartige Organisation spricht für das Vorherrschen einer efferenter Kontrolle hierarchisch höherer Zentren und weniger für eine differenzierte Verteilung der afferenten Information (Freeman u. Schneider 1982). Das für ein makrosmatisches Tier untypische Fehlen einer ausgeprägten Somatotopie zwischen Mucosa und Bulbus wurde mittlerweile auch anatomisch bestätigt (Lago-Schaaf und Bruckmoser in Vorb.). Offensichtlich sind die höheren Zentren in der Lage, die momentane Aufgabe jedes Moduls zu bestimmen. Die Tatsache, daß die richtige Verwertung der Information auch ohne Berücksichtigung der anderen parallel funktionierenden Glomeruli stattfindet, spricht für eine Selbstständigkeit der Module.

Die Zahl der sekundären Neuronen, die zusammen ein Modul bilden, differiert zwischen Säugern und niederen Wirbeltieren. Freemans Schätzung (1983b), daß Module sehr viele sekundäre Neuronen enthalten, kann nur für die Säuger gelten. Im Bulbus der Knochenfische, der weniger Neuronen und eine andere Glomeruliarchitektur aufweist, kann ein Modul aus nur einem einzigen oder einer kleinen Gruppe von sekundären Neuronen und den damit in Verbindung stehenden Interneuronen bestehen.

Freeman (1975) beschrieb einen eindeutigen Zusammenhang zwischen evozierter, EEG-artiger Summenaktivität und der Erwartungsdichte evozierter Spikes. Dabei bleibt die Frage offen, ob diese Synchronisation reizbedingt oder reizunabhängig vom Bulbus generiert wird. Durch die Untersuchung der Erwartungsdichte der Spontanaktivität wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt, daß in den sekundären Neuronen die Erwartungsdichte auch ohne Reizung oszilliert. Die Frequenzkomponenten dieser Oszillationen liegen im gleichen Frequenzbereich wie die spontanen EEG-Wellen, die aus dem Bulbus der Knochenfische abgeleitet wurden (Gerard u. Young 1937; Oshima u. Gorbman 1966; Hara et al. 1973). Die Existenz des gleichen Phänomens auch bei der Spontanaktivität zeigt, daß die dafür notwendige Synchronisation der Spikeentstehung rein intern erreicht wird, ohne daß äußere Reize dazu nötig sind.

Die Oszillation in der Erwartungsdichte zeigt, daß die Bulbus-Periodizität nur statistisch in der Spikefolge in Erscheinung tritt. Da die Erwartungsdichten der sekundären

Neuronen in dem gleichen Frequenzbereich oszillieren (Bressler 1984) und die oben erwähnte reizunabhängige Synchronisation existiert, ruft die räumliche Summation mehrerer Neuronen eine Oszillation im EEG hervor, die die gleiche Frequenz aufweist. Die Abb.21 veranschaulicht schematisch die Entstehung der Oszillation sowohl in der Erwartungsdichte als auch im EEG.

Die Oszillationen sind das Resultat von Wechselwirkungen zwischen den exzitatorischen und den inhibitorischen Neuronen (Rall u. Shepherd 1968; Freeman 1972). Selbstverständlich gibt es noch andere Interaktionen im Bulbus, so z.B. die gegenseitigen exzitatorischen Interaktionen zwischen sekundären Neuronen (Nicoll 1971) und die gegenseitigen inhibitorischen Interaktionen zwischen Interneuronen (Freeman 1972). Diese Interaktionen verursachen eine Verschiebung der EEG-Hauptkomponente, wohingegen die Oszillation selbst durch die negativen Rückkopplungen hervorgerufen wird (Freeman 1974).

C. DIE SPONTANAKTIVITÄT ALS DAS ENDERGEBNIS DER FUNKTION
EINES VIELFALTIGEN RÜCKKOPPLUNGSSYSTEMS

a. Offene Fragen zur Funktion des Bulbus

Der Bulbus besitzt auch nach der Trennung vom übrigen Gehirn die Fähigkeit, Oszillationen zu generieren (Gerard u. Young 1937; Adrian 1950). Die Entstehungsmechanismen der Oszillation liegen also im Inneren des Bulbus; der efferente Einfluß anderer Gehirnteile kann diese Oszillationen verändern (Freeman 1974).

In einer Reihe neurophysiologischer Arbeiten (ausführliche Literatur bei: Hara u. Gorbman 1967; Doeving u. Hyvärinen 1969) wurde durch die Durchtrennung des Traktus versucht, festzustellen, wie die efferente Wirkung der anderen Gehirnteile die Bulbusaktivität beeinflußt. Dabei traten zwei bedeutende Schwierigkeiten auf.

1. Die Durchtrennung des Traktus schaltete sowohl efferente als auch afferente Fasern aus, so daß die Interpretation der Ergebnisse sehr schwierig ist.
2. Bei einer operativen Durchtrennung des Traktus kann der dynamische Aspekt der Reaktion des Systems nicht voll erfaßt werden (vgl. C2).

Die Problematik, die die vorliegende Arbeit beschäftigt, erfaßt folgende Fragen:

1. Welches ist die Wirkung, bzw. die Bedeutung der efferenten Fasern?

2. Welches ist die Lage und die Struktur des Oszillators?

3. Welches ist der Mechanismus, der Spikefolgen mit den beobachteten statistischen Eigenschaften generiert?

Nebenfragen, die eine wichtige Rolle für die Verallgemeinerung der Ergebnisse spielen und diskutiert werden, sind:

4. Die Bedeutung der Spontanaktivität im Bulbus.

5. Inwieweit gelten die gefundenen Ergebnisse auch für andere Wirbeltiere?

b. Methodisches Vorgehen

Die Planung der vorliegenden Untersuchungen ging von der Arbeitshypothese aus, daß die efferenten Fasern zu extrabulbären Rückkopplungssystemen gehören, die zusammen mit intrabulbären Rückkopplungsschleifen die Oszillationen und die Rhythmik der Spontanaktivität erzeugen.

Folgende Beobachtungen führten zu der oben erwähnten Hypothese:

Die Rückkopplungen im Bulbusbereich weisen Schleifen mit einem sehr breiten Spektrum an Längen auf. Die reziproken dendrodendritischen, bzw. axoaxonalen Synapsen (Oka 1983; Kosaka u. Hama 1983) stellen die kürzesten Schleifen dar. Längere Schleifen werden gebildet, wenn Interneuronen zwischengeschaltet sind. Rückkopplungen über Axonkollaterale (Fujita et al. 1983) besitzen sehr lange

Schleifen. Die Annahme, daß noch längere Schleifen über efferenten Fasern existieren, wurde wahrscheinlich, als anatomische Arbeiten über eine Überlappung des Projektionsgebietes der sekundären Axonen und des Herkunftsgebietes der efferenten Fasern berichteten (Fujita et al.1982; Tsai 1983).

Die Hypothese wurde mit Hilfe der folgenden Kriterien getestet:

1. Ist die Hypothese in der Lage, die Entstehung der Eigenschaften der Spontanaktivität, insbesondere der Oszillationen, zu erklären?
2. Welche Phänomene werden durch das Öffnen der Rückkopplungsschleifen hervorgerufen?
3. Wie beeinflußt eine kontinuierliche Änderung der Temperatur als Systemparameter die Eigenschaften der Spontanaktivität?

Da die Kühlung des Traktus auf die Rückkopplungsschleifen reversibel, örtlich begrenzt und kontinuierlich wirkt, wurde diese Methode einer operativen Durchtrennung oder einer medikamentösen Behandlung vorgezogen. Die Abkühlung des Traktus oberhalb der Blockierungstemperatur verändert die Geschwindigkeit der Spikeausbreitung. Rückkopplungen, die über Fasern im Traktus laufen, werden somit ihre Zeitparameter und folglich auch die Art ihrer Spontanaktivität ändern.

c. Interpretation der Ergebnisse

1. Die Bulbusaktivität unter normalen Bedingungen

Das Problem der Herkunft der Spontanaktivität wurde systematisch bei in vitro isolierten Bulbi untersucht; erstmals in den Arbeiten von Mori et al. (1981b), Jahr u. Nicoll (1982a,b). Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß die sekundären Neuronen Schrittmacher-Neuronen sind, die über Interneuronen gegenseitig hemmend aufeinander einwirken. Die Hemmung wirkt so, daß die Spikerate gesenkt wird, die Periodizität jedoch erhalten bleibt. Die regelmäßige Periodizität der Spontanaktivität der isolierten Bulbi fehlt im intakten Tier.

Die vorliegenden Intervallhistogramme (SIH) zeigen mehrere Gipfel (Multimodalität bzw. großer Variationskoeffizient), was allgemein ein Kriterium für die Anwesenheit rückgekoppelter neuronaler Strukturen ist (Freeman 1975).

Die nachgewiesene serielle Korrelation der Spikeintervalle bedeutet, daß die Spikeentstehung in einem Zeitmoment von der Entstehung eines Spikes in einem früheren oder in einem späteren Moment abhängt. Die Spikefolgehistogramme (SFH) der vorliegenden Arbeit enthalten zwei verschiedene punktfreie Flächen, die als Hemmungszonen zu interpretieren sind (Pernier u. Gerin 1975). Die erste liegt ungefähr zwischen 8 und 100 msec (Typ III) und die zweite zwischen ca. 100 msec und 10 sec (Typ II); (vgl. Tabelle 3). Diese Hemmungszeiten, in denen

die Wahrscheinlichkeit der Spikeentstehung vermindert ist, repräsentieren die Laufzeiten über die Rückkopplungsschleifen, die an diesem Prozeß teilnehmen (Freeman 1975). Intrazelluläre Ableitungen bei Säugern (Mori u. Takagi 1978), Reptilien (Nowycky et al. 1981) und Fischen (Satou et al. 1983) zeigten, daß die Ursache der Hemmungen zwei Gruppen von Miniatur-IPSPs sind, und daß der Inhibitionsmechanismus bei diesen verschiedenen Wirbeltierklassen ziemlich gleichartig ist. Die Latenzen der maximalen Wirkung der beiden IPSP-Gruppen betragen 30-50 msec und 200-400 msec; ihre Dauer variiert jeweils zwischen 300 und 3000 msec (Satou et al. 1983). Intensität und Dauer der Messung ergeben sich aus der Summierung der Miniatur-IPSPs (Mori et al. 1981b).

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß die Erwartungsdichte der Spikeentstehung oszilliert, und daß Intervalle erster und höherer Ordnung überproportional häufig ganz bestimmte Längen haben. Wie in der Methodik erklärt wird, ist die Erwartungsdichte definiert als Wahrscheinlichkeit einer Spikeentstehung in einem Zeitintervall Δt , und zwar unabhängig von der Spikeaktivität des Neurons zu früheren oder späteren Zeitpunkten.

Was die Oszillation der Erwartungsdichte in unserem Fall bedeutet, wird in Abb. 22 erklärt, wobei schematisch ein hypothetischer Ablauf einer intrazellulären Ableitung (oben) und die entsprechende Erwartungsdichte während der Zeit (unten) dargestellt wird.

Wie häufig das Neuron in unserem Beispiel der Hauptperiode (100 msec) der Erwartungsdichte folgen kann, hängt von der momentanen Wirkung der IPSPs ab, die die Spikeentstehung verhindern. Die Abwesenheit von IPSPs führt zu Spikeentstehungen innerhalb der Hauptperiode, wie man aus den höheren Frequenzkomponenten (16-18 Hz, Tabelle 4) der Erwartungsdichte ersieht.

Andererseits ruft die Hemmung des Neurons durch die IPSPs Intervalle hervor, die ein Vielfaches der Hauptperiode sind; eine Tatsache, die das Vorkommen sehr langer Spikeintervalle erklärt.

Da außerdem die Erwartungsdichte als die Summe der Histogramme der Spikeintervalle aller Ordnungen betrachtet werden kann (vgl. Methodik), bedeutet die Oszillation dieser Funktion, daß die Längen mancher langer Spikeintervalle mit der Summe der Längen anderer kürzerer Intervalle übereinstimmen.

Aus all diesen Überlegungen geht hervor, daß, obwohl das Neuron die Tendenz hat, in einem bestimmten Rhythmus (Hauptperiode) zu spiken, durch die Summation, bzw. durch den Zerfall von Spikeintervallen neue Intervalle generiert werden.

Nicht nur die Oszillation der Erwartungsdichte, sondern auch die beobachtete negative Korrelation in der Spikefolge (Abb.12) rechtfertigt die Hypothese des Zerfalls der längeren Spikeintervalle. Falls ein Spike mitten in einer Hemmphase wegen einer momentanen Reduktion der hemmenden Wirkung erzeugt wird, zerfällt das lange, durch IPSPs

bestimmte Intervall in zwei kürzere Intervalle, die negativ korreliert sein müssen. In der vorliegenden Arbeit zeigen die SFH des Typs II eine solche negative Korrelation. Andererseits zeigen die SFH des Typs III zeitliche Bereiche, in denen entweder eine absolute Spikehemmung oder aber gar keine Hemmung vorliegt. Die nicht-korrelierten Intervalle des Typs I können durch die Annahme erklärt werden, daß längere IPSP-bestimmte Intervalle in mehrere kürzere zerfallen sind und deshalb in ihrer vollen Dauer nicht mehr existieren, also auch nicht mehr miteinander korrelierbar sein können. Diese Annahme wird aus den Ergebnissen der Kühlung des Traktus unterstützt, da in diesem Fall durch mehrfache Spikeentstehung innerhalb einer Periode die Korrelation entfällt (vgl.C2).

2. Die Beeinflussung der Rückkopplungen durch die Unterkühlung des Traktus

Im vorigen Kapitel wurde gezeigt, daß jedes sekundäre Neuron mit seinen Rückkopplungsschleifen ein System bildet, das für die Entstehung eines Oszillationsmechanismus verantwortlich ist. Um die Hypothese zu testen, ob die Rückkopplungsschleifen auch Traktusfasern enthalten, wurde ein kurzer Teil des Traktus unterkühlt.

Die Verlängerung der Rückkopplungszeiten: Im allgemeinen reagiert das untersuchte System nach einer leichten Unterkühlung des Traktus durch eine Verlängerung der Spikeintervalle. Dieser Effekt wird erklärt durch die

Verlangsamung der Spikeausbreitung im Traktus und die entsprechende Zeitverzögerung in der Rückkopplung.

Folgende Befunde unterstützen diese Behauptung:

- I. Mit der Verlängerung der Hemmphasen ist natürlich eine gleichzeitige Abschwächung der Hemmintensität verbunden. Beide Effekte erhöhen die Wahrscheinlichkeit von Spikeereignissen mitten in einer früheren Hemmungszeit und ändern damit die SIH und die SFH. Die SIH weisen neue Spikeintervalle auf, während die SFH bei allen untersuchten Neuronen ihre negative Korrelation wegen des Zerfalls der ursprünglichen Oszillationsperiode in Untereinheiten wechselnder Länge verlieren.
- II. Infolge der neuen Intervalle bekommt die Erwartungsdichte ein breiteres Spektrum, bzw. verliert sie ihre Hauptkomponenten.
- III. Die Geschwindigkeit der Spikeausbreitung im Traktus und die Spikerate im Bulbus hängen gleicherweise von der Temperaturänderung ab. Die $Q(10)$ -Werte im ersten Fall liegen zwischen 1.2 und 1.7 (Doeving u. Gemne 1965), während in der vorliegenden Arbeit die $Q(10)$ -Werte der Spikerate von Neuron zu Neuron zwischen 1.6 und 1.8 variieren.

Die Unterbrechung der Rückkopplungsschleifen: Durch die Kühlung des Traktus auf die Blockierungstemperatur wird das Rückkopplungssystem unterbrochen. Die Unterbrechung ruft

sowohl bei den vorliegenden Experimenten als auch bei der operativen Durchtrennung des Traktus (Doeving u. Hyvärinen 1969) entweder eine Ab- oder eine Zunahme der spontanen Spikerate der sekundären Neuronen hervor.

Anatomische Arbeiten weisen auf eine indirekte, hauptsächlich hemmende Wirkung der efferenten Fasern auf die sekundären Neuronen hin (Oka et al. 1982; Ichikawa 1976). Dabei entsteht die Frage, wie die beschriebene erregende Wirkung der efferenten Fasern (Doeving u. Hyvärinen 1969) zustande kommt.

Eine plausible Erklärung ergibt sich, wenn die inhibitorischen Wechselwirkungen zwischen den sekundären Neuronen berücksichtigt werden. Die Desinhibition, die normalerweise nach der Traktusdurchtrennung bei den meisten sekundären Neuronen stattfindet, kann zu einer Inhibition von Nachbarneuronen führen (Mori et al. 1981b).

Die intrabulbären inhibitorischen Wechselwirkungen gewinnen gerade dann eine größere Bedeutung, wenn die Traktusschleifen aus dem Modulationsmechanismus ausgeschaltet werden. Die sekundären Neuronen verlieren dadurch ihre frühere "Individualität"; die modulare Struktur, die vorausgesetzt wurde, damit jedes Neuron getrennt untersucht werden konnte, entfällt, wodurch das System eine höhere Komplexität bekommt.

D. DIE BEDEUTUNG DER SPONTANAKTIVITÄT FÜR DIE FUNKTION DES BULBUS

Die Einführung des Begriffs des Moduls in der vorliegenden Arbeit dient zur leichteren Darstellung eines komplexen Systems und soll außerdem auf eine funktionelle Teilbarkeit des Bulbus hinweisen.

Das Bauprinzip des Moduls ist die Existenz von Selbsthemmungen, deren Bedeutung im vorigen Kapitel diskutiert wurde. Der Modul ist in der Lage, einen eigenen Oszillator zu bilden und eine Spontanaktivität zu erzeugen, deren Parameter sich beim Zwergwels nunmehr ausreichend aus seiner Struktur erklären lassen. Die nötigen Rückkopplungsschleifen werden durch Faserzüge realisiert, deren Durchmesser und Leitungsgeschwindigkeiten sich als ausschlaggebend für die Abstimmung des Systems erwiesen haben. Die Kühlung demonstriert sehr deutlich, wie empfindlich das System auf eine Geschwindigkeitsänderung in seinen Fasern reagiert. Aus diesem Grund bekommen die Entdeckung eines differenzierten Faserspektrums (Wieser 1979) und die Anwesenheit mehrfacher zentripetaler Axonkolateralen im Traktus (Satou et al. 1979; Westecker u. Manns 1983) eine wichtige Bedeutung.

Im Bulbus sind die Module parallel angeordnet und senden die olfaktorische Information durch die Axonen der

Sekundären Neuronen zu höheren Zentren (ausführliche Literatur bei Oka et al.1982). Zwischen ihnen entstehen Wechselwirkungen, hauptsächlich konkurrierend durch laterale Hemmung. Durch diese Wechselwirkungen werden wahrscheinlich Gruppierungen gebildet, bei denen Gemeinsamkeiten in der Frequenz und in der Phase des EEGs entstehen (Freeman 1975). Das Ausgangssignal der Module oszilliert nicht nur nach Reizung sondern wie oben bewiesen auch spontan und sendet seine Information an ein oder mehrere Projektionsgebiete im übrigen Gehirn.

Diese Gebiete synchronisieren ihre Oszillationen mit denen des Bulbus durch eine entsprechende Frequenzverschiebung (Bressler u. Freeman 1980). Das in dieser Arbeit vorgeschlagene Modell bietet einen Mechanismus, mit dem diese Abstimmung realisiert werden kann. Die anderen zum Bulbus rückgekoppelten Hirnteile können durch Variation ihres hemmenden Einflusses die Dauer der Spikeintervalle und damit die Frequenzen in den Modulen steuern. Dieser Abstimmmechanismus könnte in einer Art Resonanzkopplung den Bulbus selektiv an bestimmte Gehirnteile ankoppeln oder von ihnen abkoppeln.

Spontanaktivität wird, wie oben gezeigt, für alle Aufgaben eines Moduls benötigt. Der Empfang olfaktorischer Informationen aus den Glomeruli, das Anpassen der ankommenden Signale an die Systemparameter jedes Moduls und die Weitergabe der verarbeiteten Information zu höheren Zentren sind alles Prozesse, die auf einer Modulation der

Spontanaktivität beruhen. Freemans Arbeiten unterstützen auf Grund der gleichen Frequenzen, die seine Module aufweisen, die Idee, daß die Information phasisch moduliert wird (Freeman 1983b). Bei dieser Modulation senden alle beteiligten sekundären Neuronen im Reizzustand Spikes mit Erwartungsdichten im gleichen Frequenzbereich aber mit unterschiedlichen Phasen.

E. VERGLEICH ZWISCHEN SAUGERN UND FISCHEN

Die wichtigsten anatomischen und physiologischen Eigenschaften des Bulbus bleiben in der ganzen Vertebratenreihe relativ unverändert. In der vorliegenden Systemanalyse wurde darauf geachtet, daß die Interpretation der Ergebnisse mit allen bisher für die verschiedenen Vertebratenklassen beschriebenen Variationen kompatibel ist.

Die drei Typen bulbärer sekundärer Neuronen (Mitral-, tufted und ruffed Zellen) wurden in der Theorie vorläufig als einheitliche Klasse behandelt. Die übrigen Neuronentypen des Bulbus (Periglomerulär-, Granula- und short-axon-Zellen) wurden als Interneurone zusammengefaßt.

Ausschlaggebend für die Klasseneinteilung der Bulbusneuronen waren ihre Funktionsaufgaben trotz eventueller anatomischer Unterschiede. Deshalb werden die Periglomerulärzellen der Säuger und die oberen Granulazellen der Fische oder die Kollateralen der Mitralzellen und die

axoaxonalen Verbindungen der ruffed cells als funktionell äquivalente Strukturen eingeschätzt.

Alle diese neuronalen Strukturen dienen der Realisierung des gleichen Bauprinzips im Bulbus, nämlich der kontrollierten Rückkopplung. Ihre anatomischen Unterschiede sind in erster Näherung vernachlässigbar. Sie können die Systemparameter, wie Verstärkung oder Zeitverzögerung der Rückkopplungen nur quantitativ, nicht aber prinzipiell beeinflussen.

Die Ansicht, daß der Bulbus bei allen Vertebraten nach dem gleichen Prinzip arbeitet, wird auch durch eine Reihe vergleichender EEG-Messungen unterstützt, bei denen die Hauptfrequenz der Bulbusoszillationen für alle Vertebraten unter Berücksichtigung der Temperaturunterschiede gleich ist (Bressler 1984).

ZUSAMMENFASSUNG

Der olfaktorische Bulbus ist eine der einfachsten kortikalen Strukturen im Gehirn der Vertebraten, die trotzdem fähig ist, spontan rhythmische Aktivität zu erzeugen. Die Entstehung dieser Aktivität beruht auf endogenen Mechanismen, da der olfaktorische Bulbus auch nach der Entfernung der Mucosa oder des restlichen Gehirns weiter spontanaktiv und periodisch bleibt (Adrian 1950, Mori et al 1981 b).

Die bisherigen Versuche, seine Funktion zu untersuchen, haben sich hauptsächlich auf die Veränderung seiner Aktivität konzentriert, die infolge elektrischer oder chemischer Reizung entsteht. Obwohl der Zustand der Spontanaktivität bei allen Untersuchungen oft als Referenz verwendet wurde, ist bis jetzt sehr wenig über die Natur und Bedeutung der Spontanaktivität bekannt.

In der vorliegenden Arbeit wurden 51 spontanaktive Neuronen des olfaktorischen Bulbus des Zwergwelses sowohl wegen der Form ihrer Spikes (Abb.4 u.5) und des Verhaltens ihrer Spontanaktivität (vgl. Yamamoto et al 1963) als auch infolge von Tests antidromischer Aktivierung und Messung der Latenz des Spikes (Abb.6) als sekundäre Neuronen identifiziert. Die stationären Teile der Spikefolgen aus diesen identifizierten Neuronen wurden mit Hilfe konventioneller statistischer Methoden untersucht (Perkel et al 1967, Wyss 1970).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die zusammen mit den anatomischen und physiologischen Eigenschaften der Bulbusneuronen zur Ableitung eines Modells dienen, sind folgende:

1. Die Periodizität

- a. Die Erwartungsdichte (Wahrscheinlichkeit einer Spikeentstehung) zeigt eine versteckte Periodizität ($T=100-150$ msec), die auf eine Summierung kurzer sukzessiver Spikeintervalle zurückzuführen ist (Abb.13).
- b. Im Gegensatz dazu weisen die einzelnen sukzessiven Spikeintervalle keine Periodizität auf (Abb.11) und variieren zwischen 2 msec und 32 sec, also bis zu einem Vielfachen der oben erwähnten Periode.

2. Die Hemmungsvorgänge

- a. Wie bei den Fischen (Satou et al 1983) und bei den Säugern (Mori und Takagi 1978) gezeigt wurde, ergeben sich Abweichungen aus einer regelmäßigen Spikeentstehung aufgrund des Zusammenwirkens einer Reihe hauptsächlich hemmender PSPs, die die Spikegenerierung der sekundären Neuronen beeinflussen.
- b. Bei Spikeentstehungen innerhalb der entdeckten Periode werden sukzessive Spikeintervalle generiert, die unter bestimmten Bedingungen miteinander negativ korrelierbar sind (Abb.12). Sowohl die negative Korrelation als auch die Anwesenheit von Hemmungszonen in den Korrelogrammen gelten als Hinweis einer IPSP Wirkung (Pernier und Gerin 1975).

c. Die Dauer, die solche Hemmungszonen aufweisen, liegt im gleichen Zeitbereich mit der Latenz der oben genannten IPSPs, wenn diese im Reizzustand nach einem Spike folgen (Tabelle 3, vgl. Satou et al 1983). Dies steht im Einklang zu der Theorie (Freeman 1975), daß die Latenz der Hemmung in einer negativen Rückkopplung die Zeitverzögerung in der Schleife repräsentiert.

Aus diesen Befunden kann man schließen, daß sich zwei verschiedene Phänomene bei der Spikeentstehung im spontanen Zustand des Bulbus überlagern.

Erstens die Tendenz der sekundären Neuronen, die ähnlich den Schrittmacher-Neuronen Spikes periodisch generieren und zweitens eine kummulative Wirkung von Miniatur-IPSPs, die eine ursprüngliche Periode der Spikegenerierung entsprechend verändern.

Durch die Annahme der Überlagerung beider Phänomene werden auf folgende Weise die vorliegenden Ergebnisse erklärt:

- I. Da die endogene Bulbus-Periodizität aufgrund der Hemmungen nur statistisch in der Spikefolge in Erscheinung tritt, bekommt nur die Erwartungsdichte den periodischen Charakter, während die sukzessiven Intervalle unperiodisch scheinen.
- II. Wenn die Periodizität durch eine zusätzliche Spikeentstehung unterbrochen wird, erscheinen kürzere sukzessive Spikeintervalle, die dann entsprechend eine negative Korrelation aufweisen.

III. Wenn die rhythmische Spikegenerierung gehemmt wird, erscheinen Spikeintervalle, die mindestens so lang sind wie die Dauer der Hemmung, also ein Vielfaches der entdeckten Periode in der Erwartungsdichte.

Drei neuronale Wege stehen im olfaktorischen System zur Verfügung, damit das sekundäre Neuron nach seiner spontanen Aktivierung die hervorgerufene Summe der PSPs zurückempfängt:

- a. Intrabulbäre Rückkopplungen
- b. Extrabulbäre Rückkopplungen mit relativ einfachen (mono- bzw. bisynaptischen) Verbindungen zum Bulbus, deren Schleifen hauptsächlich im Traktus liegen.
- c. Efferente Wirkungen höherer Zentren, die in einer komplizierten polysynaptischen Verbindung zueinander und zum Bulbus stehen.

Das oben erwähnte Modell wurde durch die Änderung der Zeitparameter der im Traktus laufenden Rückkopplungen getestet, da Versuche bei früheren Arbeiten (Doeving et al 1965, 1969), die beiden anderen neuronalen Wege zu untersuchen, zu wenig Erfolg hatten.

Methodisch konnte dieses Ziel durch die Kühlung begrenzter Orte des Traktus erreicht werden, während gleichzeitig die Spontanaktivität der sekundären Neuronen im Bulbus abgeleitet wurde.

Bei allen Neuronen ($n=17$) rief die Unterkühlung ihrer Axonen im Traktus einen Rückgang der Spikerate hervor. Eine Abkühlung von 1-2 °C reichte aus, um eine statistisch

signifikante Abnahme der Spikerate aller untersuchten Neuronen zu registrieren (Abb.14).

Da aus diesen Kühlungsexperimenten die Länge der Spikeintervalle in direkter Abhängigkeit zu der Temperatur im Traktus (Abb.15-17), bzw. zu der Geschwindigkeit der Spikeausbreitung im Traktus gefunden wurde, konnte daraus geschlossen werden, daß die Länge der Spikeintervalle -zumindest für den untersuchten Bereich (Traktus)- mit der Zeitverzögerung in der Rückkopplungsschleife in Zusammenhang stehen.

Das vorgeschlagene Modell stellt ein hierarchisches System dar, in dem die Prioritäten der verschiedenen synaptischen Untersysteme im Bulbus festgelegt werden. Die negativen Rückkopplungen der sekundären Neuronen und ihrer Kollateralen besitzen die höhere Priorität und beeinflussen am stärksten die Intervallbildung. Die erregenden und die hemmenden Wechselwirkungen zwischen den sekundären Neuronen spielen zumindest im spontanen Zustand des Bulbus eine untergeordnete Rolle.

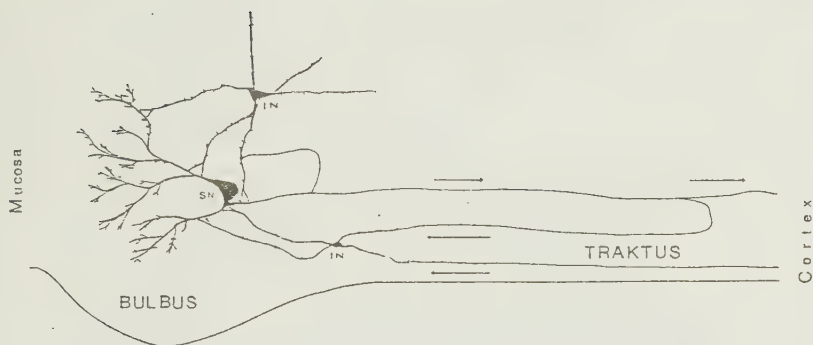


Abb.1: Schematische Darstellung der intra- und extrabulbären Rückkopplungen des olfaktorischen Systems der Knochenfische (nach Ichikawa 1976, Fujita et al 1983). (SN=sekundäre Neuronen, IN=Interneuronen)



Abb.1a: Übersicht über das Operationsfeld (OM: Mucosa, OT: Traktus, OB: Bulbus, C1 bzw. C2: Kühlungs-elektrode, St: Reizelektrode)

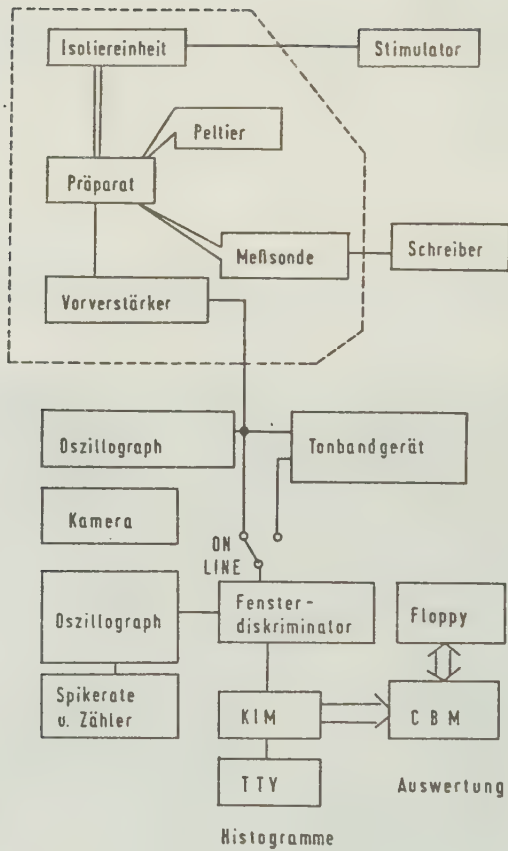


Abb.2: Die Versuchsanordnung

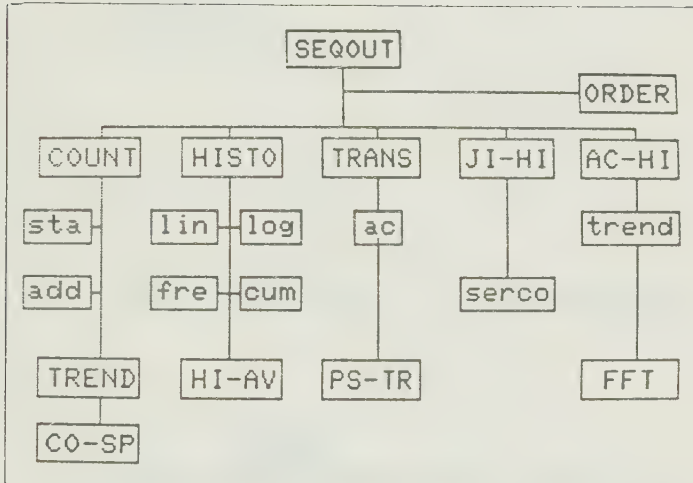


Abb.3: Die Menü-Verwaltung der Programme für die Auswertung der Spikefolge und für die grafische Darstellung.
(Abkürzungen s. Methodik)

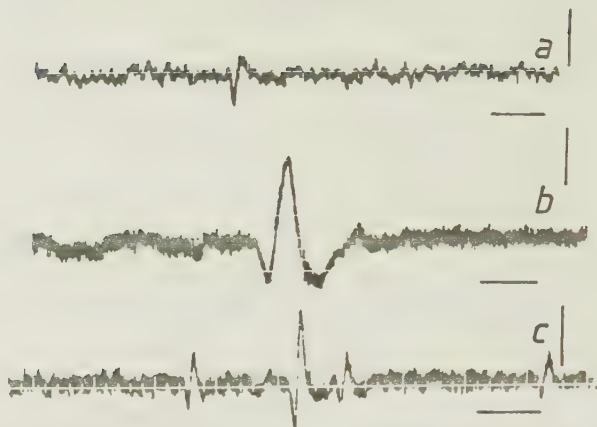


Abb.4: Spontane Spikes verschiedener Neuronen; a und c) 10 msec, b) 5 msec; 0.1 mV

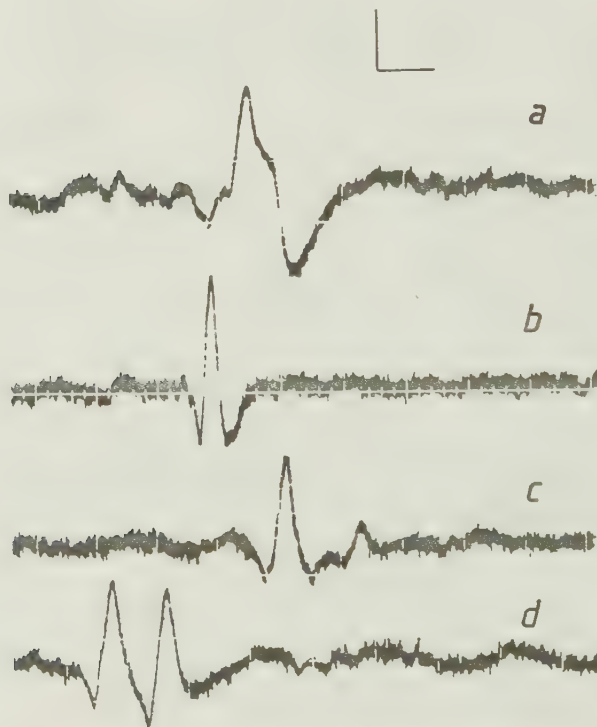


Abb.5: Spontane Spikes verschiedener Neuronen; a) 2 msec, 0.1 mV; b) 10 msec, 0.05 mV; c und d) 5msec, 0.1 mV, der Doppelgipfel war typisch für dieses Neuron.

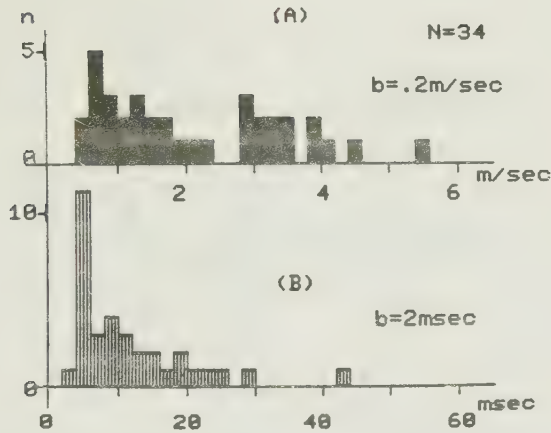


Abb.6A: Histogramm der Leitungsgeschwindigkeiten der antidrom identifizierten sekundären Neuronen, Binweite = 0.2 m/sec.

Abb.6B: Histogramm der Latenzen der antidrom generierten Spikes dieser Neuronen umgerechnet auf die Strecke 10 mm von Soma, Binweite=2 msec (Temperatur 13°C).

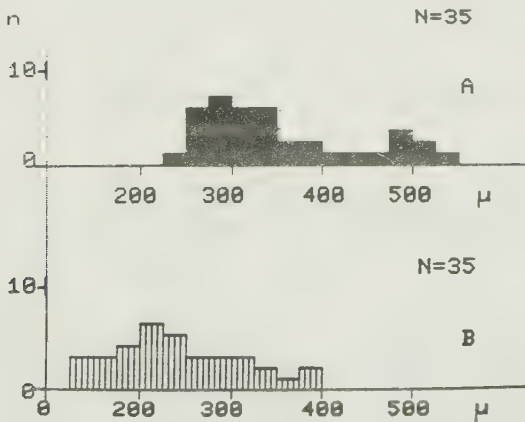


Abb.7: Histogramme der Ableitungsorte; (A) Einstichtiefe der Elektrode (abgelesen am Mikromanipulator); (B) Tiefe der Ableitorte, in radialer Richtung unter der Oberfläche gemessen.

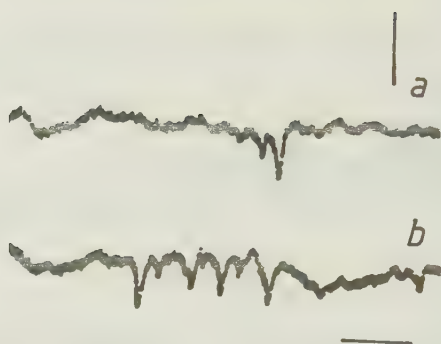


Abb.8: Spikeartige Potentiale, abgeleitet vermutlich von Interneuronen (s. Text); 5 msec, 0.1 mV.

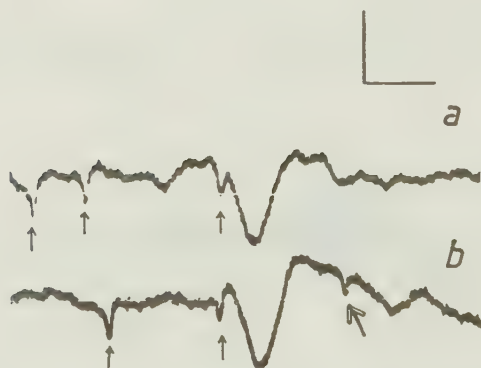


Abb.9: Biphasische Spikes sekundärer Neuronen. Die kleinen negativen Potentiale (Pfeile) haben alle Merkmale der Aktivität eines Interneurons. Wenn die kleinen negativen Potentiale gleichzeitig mit der positiven Phase der großen Spikes entstehen (doppelter Pfeil), wird immer diese Phase deutlich von 4 auf 7 msec verlängert; 5 msec, 0.1 mV.

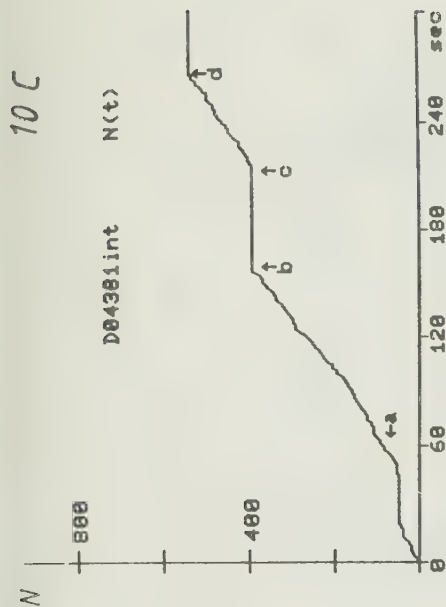
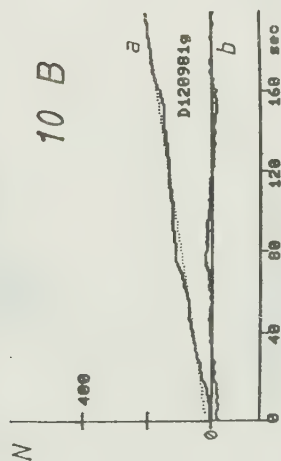
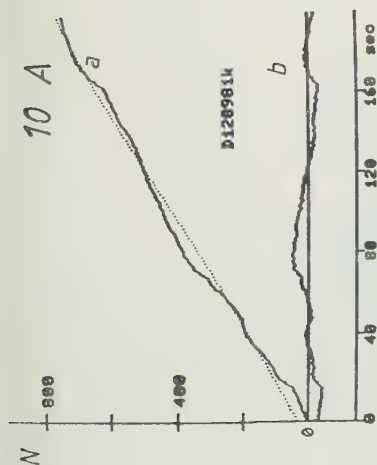


Abb.10A und 10B: (a) zeigt jeweils die Funktion $N(t)$, d.h. die Summe der bisherigen Intervalle. Die Abweichung der Spikerate aus der mittleren Rate wird in (b) gezeichnet.

Abb.10C: Die $N(t)$ -Funktion; a-d zeigen Änderungen des Stationaritätszustands.

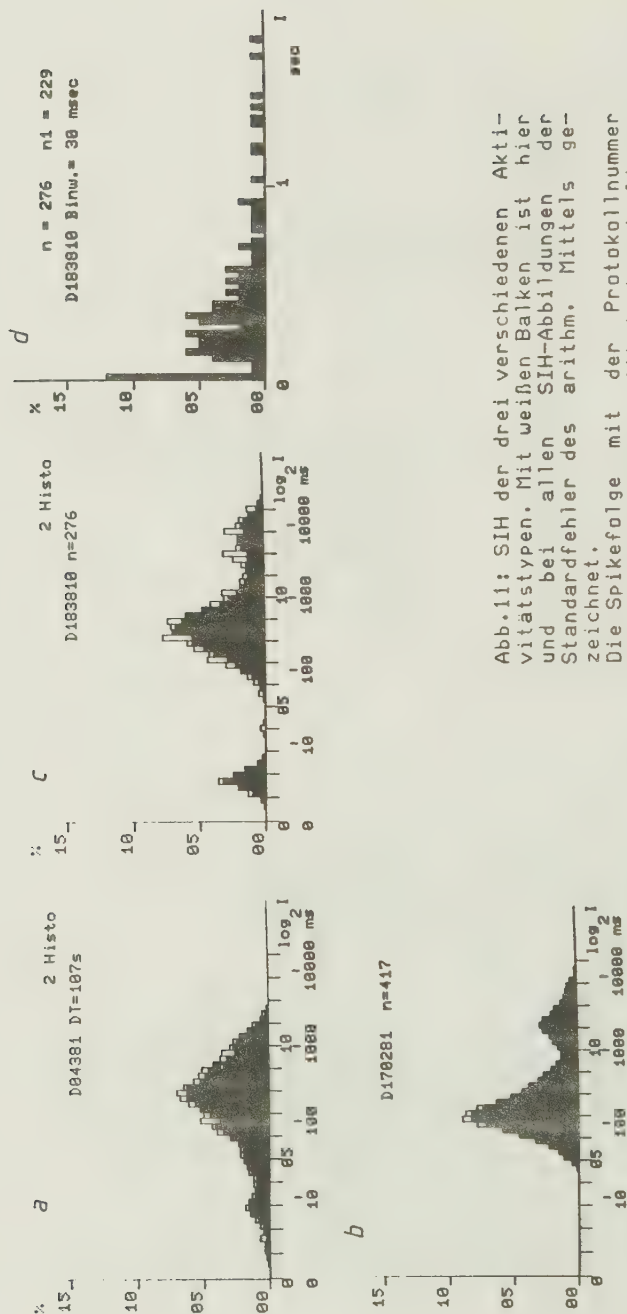


Abb.11: SIH der drei verschiedenen Aktivitätstypen. Mit weißen Balken ist hier und bei allen SIH-Abbildungen der Standardfehler des arithm. Mittels gezeichnet.
Die Spikefolge mit der Protokollnummer D183810 ist halblogarithmisch und linear dargestellt (c,d).
(n=Anzahl der Spikes)

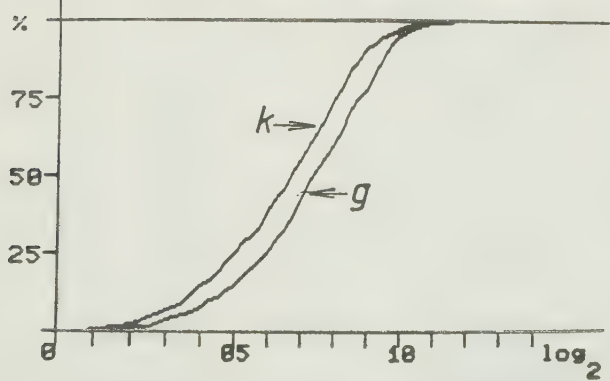
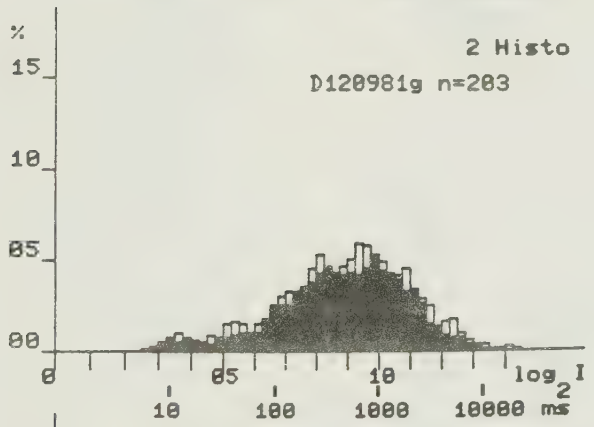
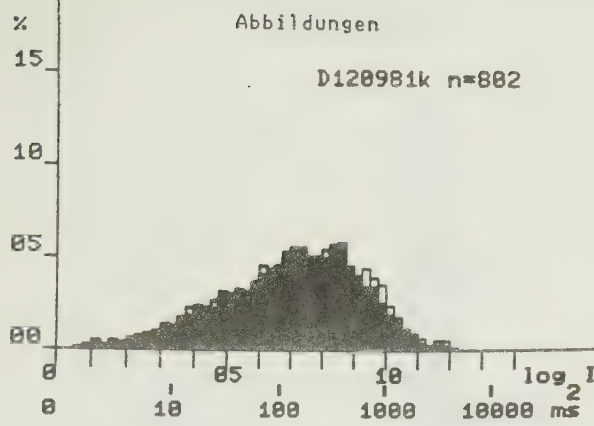


Abb.11A: SIH von zwei gleichzeitig mit einer Elektrode abgeleiteten, benachbarten Neuronen und ihre Verteilungsfunktionen.

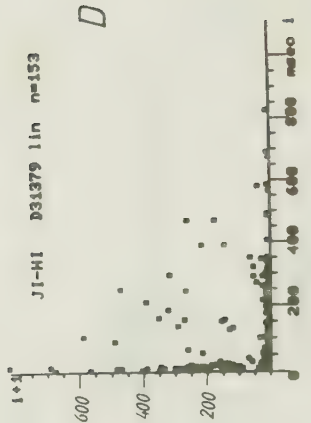
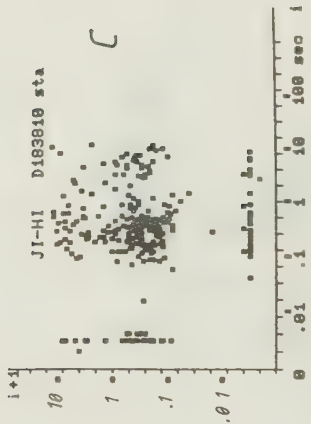
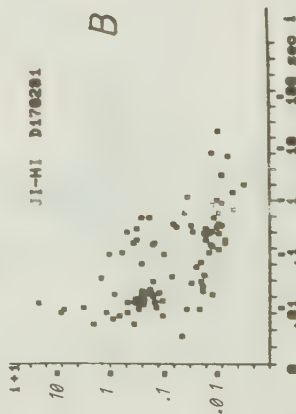
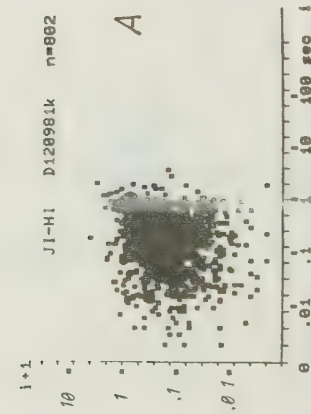


Abb.12: SFH der drei verschiedenen Korrelationsgruppen.
 A) Gruppe I: Schwache Korrelation
 B) Gruppe II: Negative Korrelation
 C) Gruppe III: Teilweise Korrelation der "kurzen-langen" Intervalle
 D) Gruppe II: Lineare Darstellung

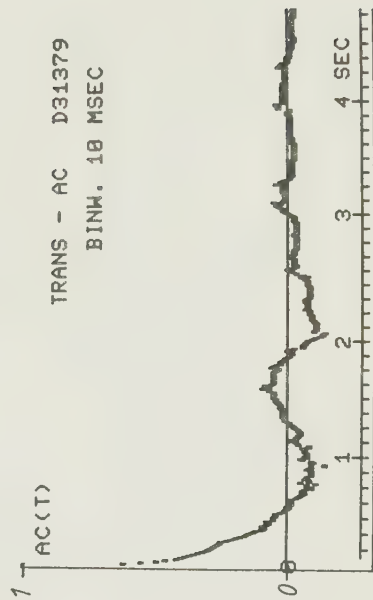
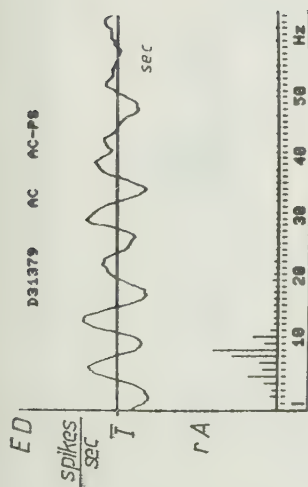


Abb.13 A: Oben die Erwartungsdichte, Binweite = 5 msec; unten ihr FFT-Spektrum. Jeweils relative Werte
Abb.13 B: Die Erwartungsdichte nach der Randomisierung der Intervalle, Abbildung wie bei 13A oben.
Abb.13 C: Die Transautokorrelation (Binweite = 10 msec)

Abb. 14



Abb. 16

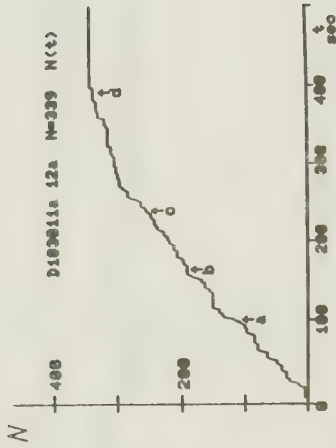


Abb. 15

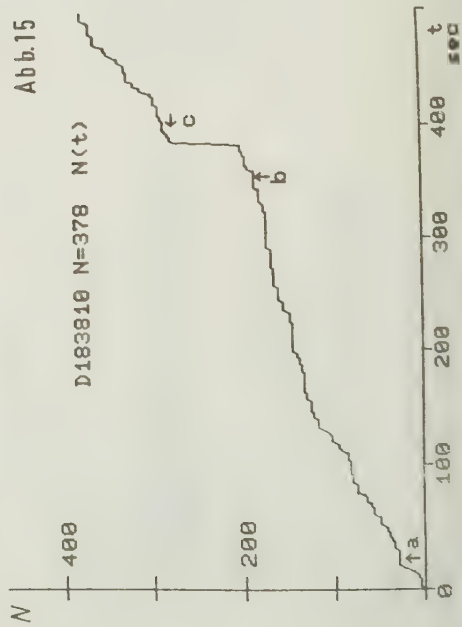


Abb. 14: Eine dreistufige Unterkühlung des Traktus und die entsprechende Abnahme der Spikerate (unten). Blockierungstemperatur = $-1,2^{\circ}\text{C}$

Abb. 15: Beeinflussung der Spikerate während und nach der Kühlung. Darstellung durch die $N(t)$ -Funktion. Abnahme der Spikerate während der ersten Phase der Kühlung bei $13-6^{\circ}\text{C}$ (a-b), Erhöhung der Spikerate nach der Blockierung bei -1°C (b-c).

Abb. 16: Stufenweise Kühlung bis auf die Blockierungstemperatur (-2°C). Die Senkung der Spikerate wird nach der Blockierung (d) verstärkt.

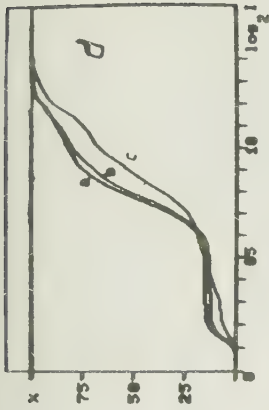
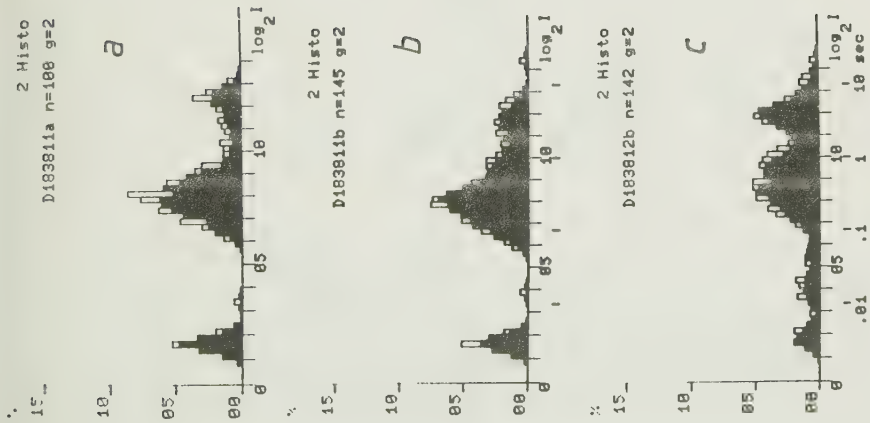


Abb.17: Allmähliche Verschiebung der Histogramme in Richtung längerer Spikeintervalle.
a-c: SIH, d: die jeweiligen Verteilungsfunktionen zeigen den Unterschied deutlicher ($P=0.95$).

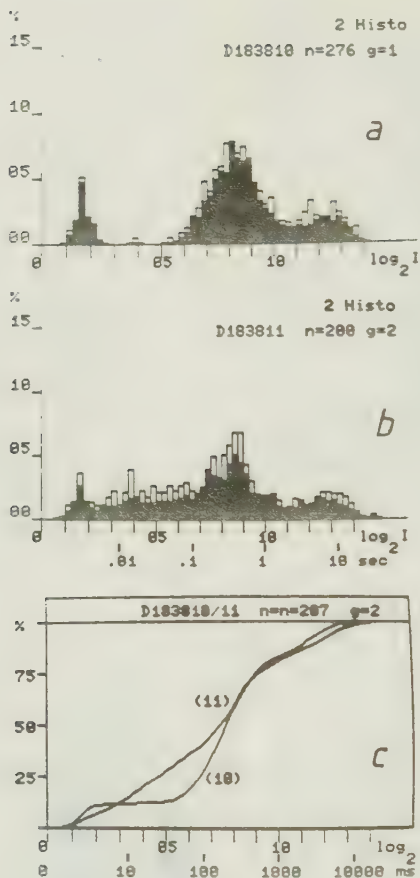


Abb.18: Änderung der Spikeintervallhistogramme.
(a) vor und (b) nach der Blockierung. Die Verteilungsfunktionen in (c) veranschaulichen die Unterschiede ($P=0.95$).

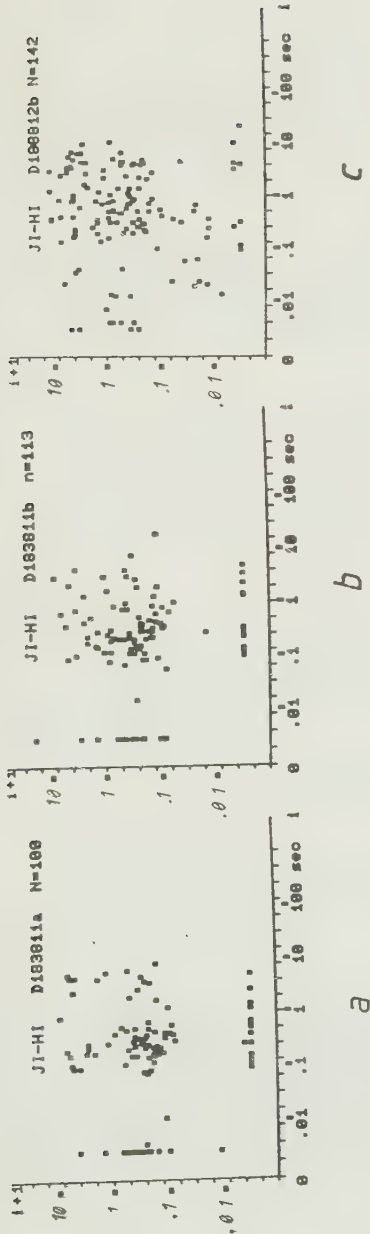


Abb.19: Die Spikefolgehistogramme während einer stufenweisen Kühlung des Traktus. Bei (c) können keine Teilmassen mehr in der Punktwolke unterschieden werden.

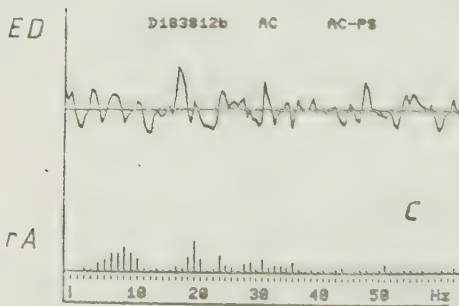
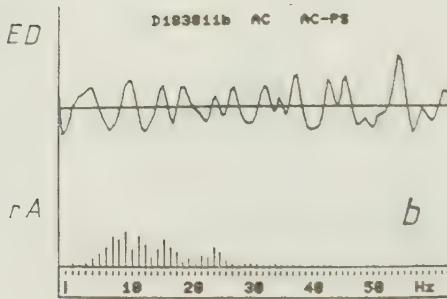
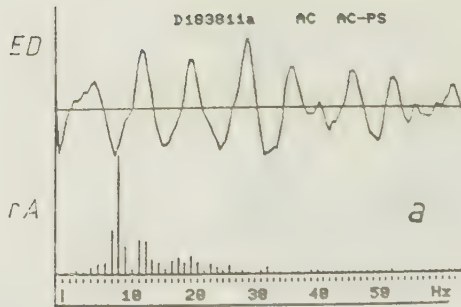


Abb.20: Die Erwartungsdichte (a) vor und (b,c) nach der Unterkühlung. Die Periodizität der Spikefolge wird sehr stark reduziert.

Spikfolgen einer Gruppe sekundären Neuronen

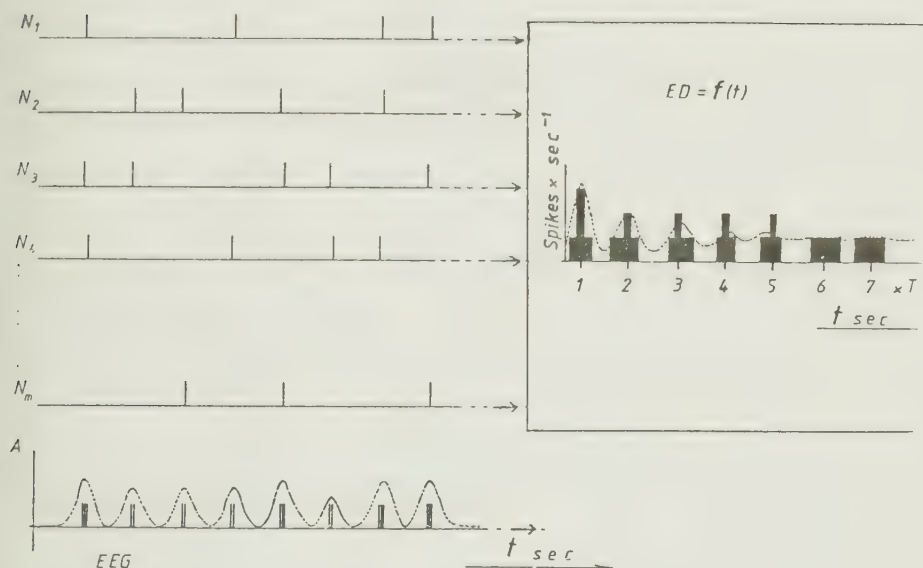


Abb.21: Schematische Darstellung der Entstehung der Oszillationen in der Erwartungsdichte und im EEG. Extrazelluläre Aktivität der Neuronen $N_1, N_2, \dots, N_m$ summiert sich auf und bildet das EEG (unten). Rechts ist als Beispiel die Erwartungsdichte (ED) eines der Neuronen aufgetragen (in Spikes/sec). Die Erwartungsdichte und das EEG oszillieren im gleichen Frequenzbereich.

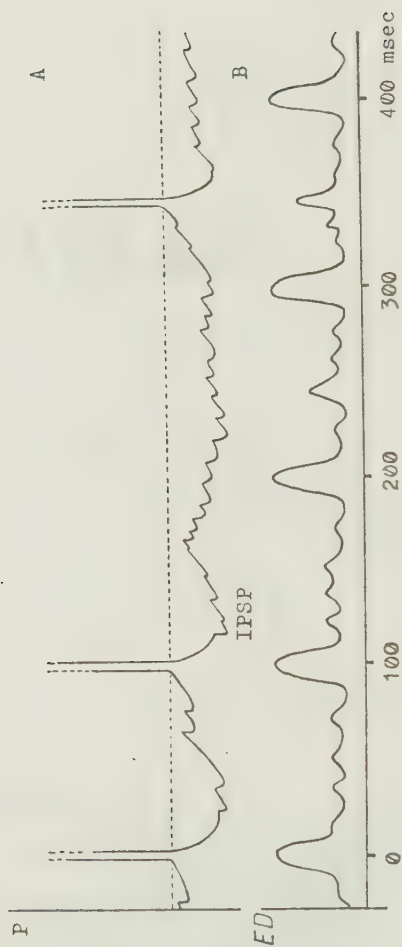


Abb.22: Vergleich der Oszillation der Erwartungsdichte (B) mit der "tatsächlichen" Spikeaktivität des Neurons (A).

L I T E R A T U R

- Adrian E.D. (1950): The electrical activity of the mammalian olfactory bulb. EEG Clin. Neurophysiol.(2) 377-388.
- Amassian V.E. (1961): In International Review of Neurobiology. Ed: C.C. Pfeiffer; J.R. Smythies. (3) 67-137.
- Andres K.H. (1970): Anatomy and ultrastructure of the olfactory bulb in fish, amphibia, reptiles, birds and mammals. p.177-196. In Taste and smell in vertebrates; Ciba-Symposium London.
- Bendat J.S. and Piersol A.G. (1971): Random data: Analysis and measurement procedures.
- Bishop P.O.; Burke W. and Davis R. (1962a): The identification of single units in C-visual pathways. J. Physiol. (162) 409-431.
- Bishop P.O.; Burke W. and Davis R. (1962b): Single-unit recording from antidromically activated optic radiation Neurons. J.Physiol.(162) 432-450.
- Bliss T.V.P. and Rosenþerg M.E. (1979): Activity-dependent changes in conduction velocity in the olfactory nerve of the tortoise. Pflügers Arch.(381) 209-216.
- Bressler S. (1984): Spatial organization of EEGs from olfactory bulb and cortex. EEG Clin. Neurophysiol.(57) 270-276.

- Bressler S. and Freeman W. (1980): Frequency analysis of olfactory system, EEG in cat, rabbit and rat. EEG Clin. Neurophysiol.(50) 19-24.
- Bruckmoser P. (1973): Beziehungen zwischen Struktur und Funktion in der Evolution des Telencephalon. Verhandl. d. D. Zool. Gesellschaft.(66) 219-229.
- Corrigall W.A. and Sherebrin M.H. (1976): Spontaneous activity in amphibian second order olfactory neurons. Brain Research (103) 555-559.
- Cox D.R. (1965): On the Estimation of the Intensity Function of a Stationary Point Process. J. Roy. Statist. Soc. (B 27) 332-337.
- Cox D.R. (1966): Erneuerungstheorie
- Cox D.R. and Lewis P.A.W. (1966): The statistical analysis of series of events.
- Doeving K.B. and Gemne G. (1965): Electrophysiological and histological properties of the olfactory tract of the burbot (*Lota lota* L.). J. Neurophysiol.(28) 139-153.
- Doeving K.B. and Hivärinen J. (1969): Afferent and efferent influences on the activity pattern of single olfactory neurons. Acta physiol. scand.(75) 111-123.
- Engler U. (1980): Histologische Untersuchungen am Bulbus olfactorius des Zwergwelses, *Ictalurus nebulosus*. Diplomarbeit der Universität München.
- Freeman W. (1972): Measurement of oscillatory responses to electrical stimulation in olfactory bulb of cat. J. Neurophysiol.(35) 762-779.

- Freeman W. (1974): Average transmission distance from mitral-tufted to granule cells in olfactory bulb. EEG Clin. Neurophysiol.(36) 609-618.
- Freeman W. (1975): Mass action in the nervous system. N.York Acad.Press.
- Freeman W. (1981): A physiological hypothesis of perception. Perspect. Biol. Med.(24) 561-592.
- Freeman W. (1983a): Dynamics of image formation by nerve cell assemblies. p.102-121. In Synergetics of the Brain; Ed.Basar E.; Flohr H.; Haken H.; and Mandell A.J.
- Freeman W. (1983b): Semi-autonomous control of input by nerve cell assemblies through genesis of images. Proc. IEEE Intern. conf. on computer design - VLSI in Computers - p.21-24.
- Freeman W. (1983c): Experimental demonstration of "shunting networks", the "sigmoid function", and "adaptive resonance" in the olfactory system. The Behavioral and Brain Sciences (6) 665-666.
- Freeman W. and Schneider W. (1982): Changes in spatial patterns of rabbit olfactory EEG with conditioning to odors. Psychophysiology (19) 44-56.
- French A.S. and Holden A.V. (1971): Alias-Free Sampling of Neuronal Spike Trains. Biol. Cybern. (8) 165-171.
- Fujimori B.; Tokizane T. and Eldred E. (1959): Effect upon monosynaptic reflexes of decamethonium and succinylcholine. I. Peripheral mechanisms. J. Neurophysiol. (3) 165-176.

- Fujita I.; Satou M. and Ueda K. (1982): An evoked potential study of efferent and afferent connections of the carp olfactory bulb. Proc. of the 16th Japanese Symposium on Taste and Smell. 135-138.
- Fujita I.; Satou M. and Ueda K. (1983): Morphology of carp mitral cells intracellularly labelled with horseradish peroxidase. Proc. of the 17th Japanese Symposium on Taste and Smell. 5-8.
- Gerard R.W. and Young J.Z. (1937): Electrical activity of the central nervous system of the frog. Proc. roy. Soc. (122) 343-352.
- Gerstein G.L. and Kiang Y.S. (1960): An approach to the quantitative analysis of electrophysiological data from single neurons. Biophys. J. (1) 15-28.
- Getchell T.(1973): Analysis of unitary spikes recorded extracellularly from frog olfactory receptor cells and axons. J. Physiol. (234) 533-551.
- Getchell T. and Getchell M. (1974): Signal-detecting mechanisms in the olfactory epithelium: molecular discrimination. Ann. N.Y. Acad. Sci.(237) 62-75.
- Hara T.J.; Freese M. and Scott K.R.(1973): Spectral analysis of olfactory bulbar responses in rainbow trout. Jap. J. Physiol.(23) 325-333.
- Hara T.J. and Gorbman A. (1967): Electrophysiological studies of the olfactory system of the goldfish, *carassius auratus* L. -I. Modification of the electrical activity of the olfactory bulb by other central nervous structures. Comp. Biochem. Physiol.(21) 185-200.

- Holden A.V. and Ramadan S.M. (1980): Identification of endogenous and exogenous activity in a molluscan neurone by spike train analysis. *Biol. Cybern.* (37) 107-114.
- Huggins W.H. (1957): Signal-flow graphs and random signals. *Proc. I.R.E.* (45) 74-86.
- Hyvärinen J. (1966): Analysis of spontaneous spike potential activity in developing rabbit diencephalon. *Acta physiol. scand.* (68)-Suppl.(278) 1-67.
- Ichikawa M. (1976): Fine structure of the olfactory bulb in the goldfish, *Carassius auratus*. *Brain Res.* (115) 43-56.
- Jahr C. and Nicoll R. (1982a): Noradrenergic modulation of dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb. *Nature* (297) 227-229.
- Jahr C. and Nicoll R. (1982b): An intracellular analysis of dendrodendritic inhibition in the turtle in vitro olfactory bulb. *J. Physiol.* (326) 213-234.
- Kosaka T. and Hama K. (1983): Synaptic organization in the teleost olfactory bulb. *J. Physiol.*; Paris (78) 707-719.
- Lancet D.; Greer C.A.; Kauer J.S. and Shepherd G.M. (1982): Mapping of odor-related neuronal activity in the olfactory bulb by high-resolution 2-deoxyglycose autoradiography. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* (79) 670-674.
- Moore G.P.; Perkel D.H. and Segundo J.P. (1966): Statistical analysis and functional interpretation of neuronal spike data. *Ann. Rev. Physiol.* (28) 493-522.
- Mori K. and Takagi S.F. (1978): An intracellular study of dendrodendritic inhibitory synapses on mitral cells in the rabbit olfactory bulb. *J. Physiol.* (279) 569-588.

- Mori K.; Nowycky M.C.; Shepherd G.M. (1981a): Electrophysiological analysis of mitral cells in the isolated turtle olfactory bulb. *J. Physiol.*(314) 281-294.
- Mori K.; Nowicky M.C.; Shepherd G.M. (1981b): Analysis of synaptic potentials in mitral cells in the isolated turtle olfactory bulb. *J. Physiol.*(314) 295-309.
- Mori K.; Nowicky M.C.; Shepherd G.M. (1981c): Analysis of a long-duration inhibitory potential in mitral cells in the isolated turtle olfactory bulb. *J. Physiol.*(314) 311-320.
- Mountcastle V.B.; Davies P.W. and Berman A.L.(1957): Response properties of neurons of cat's somatic sensory cortex to peripheral stimuli. *J. Neurophysiol.* (20) 374
- Nicoll R.A. (1971): Recurrent excitation of secondary olfactory neurons; A possible mechanism of signal amplification. *Science* (171) 824-825.
- Nowycky M.C.; Mori K. and Shepherd G.M. (1981): Blockade of synaptic inhibition reveals long-lasting synaptic excitation in isolated turtle olfactory bulb. *J. Neurophysiol.*(46) 649-658.
- Nowycky M.C.; Halasz N. and Shepherd G.M.(1983): Evoked field potential analysis of dopaminergic mechanisms in the isolated turtle olfactory bulb. *Neuroscience* (8) 717-722.
- Oka Y. (1983): Golgi electron-microscopic and combined golgi-electron-microscopic studies of the mitral cells in the goldfish olfactory bulb. *Neuroscience* (8) 723-742.
- Oka Y.; Ichikawa M. and Ueda K.(1982): Synaptic organization of the olfactory bulb and central projection of the olfactory tract p.61-75. In *Chemoreception in Fishes*. Ed. Hara T.

- Orrego F. (1961): The reptilian forebrain. I. The olfactory pathways and cortical area in the turtle. Arch. ital. biol.(99) 425-445.
- Oshima K. and Gorbman A.(1966): Olfactory responses in the forebrain of goldfish and their modification by thyroxine treatment. Gen. Comp. Endocrinol. (7) 398-409.
- Perkel D.H.; Gerstein G.L. and Moore G.P.(1967): Neuronal spike trains and stochastic point processes. Biophys. J. (7) 391-418.
- Pernier J. and Gerin P.(1975): Temporal pattern analysis of spontaneous unit activity in the neocortex. Biol. Cybern.(18) 123-136.
- Peterson R.H. and Prosser C.L.(1972): The effects of cooling on electrical responses of goldfish (*Carassius auratus*) central nervous system. Comp. Biochem. Physiol.(42A) 1019-1037.
- Poggio G.F. and Viernstein L.J. (1964): Time series analysis of impulse sequences of thalamic somatic sensory neurons. J. Neurophysiol. (27) 517-545.
- Potapov A.A. and Guselnikova K.G. (1976): Electronic interaction between secondary neurons of the carp olfactory bulb. Neurophysiology (8) 375-380.
- Rall W. (1962): Theory of physiological properties of dendrites. Ann. N.Y.Acad. Sci (96) 1071-1092.
- Rall W. (1977): Core conductor theory and cable properties of neurons. In Handbook of Physiology, sec.1. The Nervous System p.39-97. Amer. Physiol. Society.

- Rall W. and Shepherd G.M. (1968): Theoretical reconstruction of field potentials and dendrodendritic synaptic interactions in olfactory bulb. *J. Neurophysiol.* (31) 884-915.
- Rodieck R.W.; Kiang N.Y.-S and Gerstein G.L. (1962): Some quantitative methods for the study of spontaneous activity of single neurons. *Biophys. J.* (2) 351-368.
- Satou M.; Ichikawa M.; Ueda K. and Takagi S. (1979): Topographical relation between olfactory bulb and olfactory tracts in the carp. *Brain Res.* (173) 142-146.
- Satou M.; Fujita I.; Ichikawa M.; Yamaguchi K. and Ueda K. (1983): Field potential and intracellular potential studies of the olfactory bulb in the carp; Evidence for a functional separation of the olfactory bulb into lateral and medial subdivisions. *J. comp. Physiol. A* (152) 319-333.
- Schwartz E.L.; Ramos A. and John E.R. (1976): Single Cell Activity in Chronic Unit Recording: A Quantitative Study of the Unit Amplitude Spectrum. *Br. Research Bulletin* (1) 57-68.
- Schwartz P. (1970): Beiträge zur Steuerung der Burstätigkeit des Bulbus olfactorius. *Acta biol. med. germ.* (25) 127-138.
- Sharp F.R.; Kauer J.S. and Shepherd G.M. (1975): Local sites of activity-related glucose metabolism in rat olfactory during olfactory stimulation. *Brain Res.* (98) 596-600.
- Sharp F.R.; Kauer J.S. and Shepherd G.M. (1977): Laminar analysis of 2-deoxyglucose uptake in olfactory bulb and olfactory cortex of rabbit and rat. *J. Neurophysiol.* (40) 800-813.

- Shepherd G.M. (1970): The olfactory bulb as a simple cortical system: Experimental analysis and functional implications. In The Neurosciences. N. York p. 539-552.
- Shepherd G.M. (1972): Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. *Physiol. Rev.*(52) 864-917.
- Shepherd G.M. (1978): Microcircuits in the nervous system. *Scientific American* (238) 93-103.
- Shepherd G.M. (1979): The synaptic organization of the brain. N.York.
- Terzuolo C.A. and Bayly E.J. (1968): Data transmission between neurons. *Biol. Cybern.* (2) 83-85.
- Towe A.L. (1973): Sampling Single Neuron Activity; in Bioelectric Recording Techniques. By R.F. Thompson and M.M. Patterson. Acad. Press.
- Tsai Y.F. (1983): Ursprungsgebiete efferenter olfaktorischer Fasern beim Zwergwels, *Ictalurus nebulosus*. Diss. Univ. München.
- Watanabe Y. (1969): Statistical measurement of signal transmission in the central nervous system of the crayfish. *Biol. Cybern.* (6) 124-130.
- Westecker M. and Manns D. (1983): Antidromic activation of spikes with bimodal and trimodal latencies in the olfactory bulb of rabbits. *Brain Res.*(288) 119-130.
- Wieser R. (1979): Neurophysiologische und histologische Untersuchungen an Bulbus und Tractus olfactorius des Zwergwelses *Ictalurus nebulosus* unter Einsatz von elektrischen Reizen und pheromonhaltigem Duftwasser von Artgenossen. Diss. Univ. München.

- Wyss U.R. (1970): Stap 8; A subroutine package for statistical on-line analysis of simultaneous neuronal spike trains. Computer progr. in biomed. (1) 9-22.
- Yamamoto C.; Yamamoto T. and Iwama K. (1963): The inhibitory systems in the olfactory bulb studied by intracellular recording. J. Neurophysiol. (26) 403-415.
- Zadeh L.A. (1957): Signal-flow graphs and random signals. Proc. I.R.E. (45) 1413-1414.

L e b e n s l a u f

Name	GEORGAKARAKOS	Efstratios
Geburtsdatum -ort	26. 09. 1948	Athen
Volksschule/Gymnasium	09. 1953-06. 1966	Athen
Universitätsstudium (Biologie)	09. 1966-10. 1971	Athen
Wissenschaftliche Hilfskraft	04. 1970-10. 1971	Research Center "Demokritos"
Militärdienst	10. 1971-10. 1973	
Biologie- und Physiklehrer	12. 1973-09. 1976	München
Vorbereitung zum Promotionsstudium (Gr. Praktikum II, Seminare)	09. 1976-09. 1978	Zoologisches Institut
Wissenschaftlicher Mitarbeiter eines DFG-Projektes	04. 1978-09. 1978	" "
Doktorarbeit	10. 1978-1985	Prof. Dr. Bruckmo- ser (Z. Institut, München)
Stipendiat des DAAD und des Bayerischen Staates	10. 1978-02. 1982	
Teilnahme an den ECRO-Kongressen	09. 1978/09. 1982	Pavia/Regensburg
In der Forschung tätig	seit 09. 1985	Research Center of Crete

